

**T.C.  
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FINDIK ZURUFUNUN METANOLİK ÖZÜTÜNE AİT BİYOLOJİK  
ETKİNLİĞİN ARAŞTIRILMASI**

**SEVGİ PİRİNÇ**

**TEZ DANIŞMANI**

**PROF. DR. HÜSEYİN AVNİ UYDU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RİZE-2020**

## ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Sevgi Pirinç 'in hazırladığı "Fındık Zurufunun Metanolik Özütüne Ait Biyolojik Etkinliğin Araştırılması" başlıklı çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/07/2020

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU  
(Danışman)

Doç. Dr. Sermet YILDIRMIŞ

Prof. Dr. Adnan YILMAZ

---

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne /06/2020 tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../20..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Bu tez çalışmasının Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

07.18/2020

Sevgi PİRİNÇ

(İmza)



## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecinde bilgi ve tecrübesiyle desteğini benden esirgemeyen başta değerli danışmanım Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU'ya, değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehtap ATAK'a eğitim sürecimde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Adnan YILMAZ'a, Prof. Dr. Ahmet ALVER'e, Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül UZUN SÜMER'e, Dr. Öğr. Üyesi Medeni ARPA'ya, Doç. Dr Nimet AKTAŐ BALTAŐ'a, Doç. Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca ihtiyaç duyduğum her anda yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Sibel KARAKAŐ'a ve Arş. Gör. Esra PINARBAŐ'a lisansüstü eğitiminde beraber yol aldığım arkadaşım Arş. Gör. Eda KUTLU'ya ve manevi desteğini güler yüzünü hissettiğim Arş. Gör. Merve TÜRKER'e teşekkür ederim.

Son olarak, beni her zaman destekleyen, sabır gösteren, maddi ve manevi emek veren değerli annem ve babam Emine PİRİNÇ ve Ömer PİRİNÇ'e ablalarım ve kız kardeşime, hayatıma sürpriz gibi giren nişanlım Kemal AVCI'ya sonsuz teşekkürler.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>İÇ KAPAK SAYFASI</b>	
<b>KABUL ve ONAY</b>	
<b>BEYAN</b>	
<b>TEŞEKKÜR</b>	
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>v</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ</b>	<b>x</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Fındık Tanımı	3
2.1.1. Ekolojik Koşulları	3
2.1.2. Fındık Zurufu	4
2.1.3. Fındık Zurufunda Bulunan Fenolik Asitler	5
2.2. Serbest Radikaller	5
2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri	7
2.2.2. Reaktif Azat Türleri	9
2.3. Serbest Radikal Kaynakları	9
2.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri	10
2.4.1. Lipitlere Etkileri	11
2.4.2. Karbohidratlara Etkileri	13
2.4.3. Proteinlere Etkileri	13
2.4.4. DNA'ya Etkileri	13
2.5. Oksidatif Stres	14
2.6. Antioksidanlar	15
2.6.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar	16
2.6.1.1. Bazı Enzimatik Antioksidanlar	16

2.6.1.2. Bazı Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	18
2.6.2. Ekzojen Kaynaklı Antioksidanlar	20
2.6.2.1.Sentetik Antioksidanlar	20
2.6.2.2.Doğal Antioksidanlar	20
2.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	25
2.7.1. Toplam Fenolik Madde Tayini	26
2.7.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	26
2.7.3. Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasitesi Yöntemi (CUPRAC)	27
2.7.4. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)	28
2.7.5. İndirgenme Potansiyeli Metodu	28
2.7.6. DPPH Serbest Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi	29
2.8. Eritrosit Yapısı	29
2.8.1. Eritrosit ve Oksidatif Stres	30
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>32</b>
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Markaları	32
3.2. Kullanılan Cihazlar	33
3.3. Kullanılan Çözeltiler	33
3.4. Fındık zurufununun Toplanması ve Öğütülmesi	36
3.5. Ekstratın Hazırlanışı	36
3.6. Fındık Zurufunun Antioksidan aktivite çalışmaları	36
3.6.1.Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	36
3.6.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi	38
3.6.3. İndirgenme Potansiyeli Metodu	39
3.6.4. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini	40
3.6.5. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	41
3.6.6. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi	42
3.7. Lipit Peroksidasyonunu Engelleme Kapasitesinin Belirlenmesi	43
3.7.1.Eritrosit Paketinin Hazırlanması	43
3.7.2. Hücre Süspansiyonlarının Hazırlanması	43
3.7.3. MDA Tayini	44
3.8. İstatistik Analiz	45
<b>4. BULGULAR</b>	<b>46</b>
4.1. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlерinin Toplam Fenolik Madde İçerikleri	46

4.2. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin Toplam Flavonoid (TF) Madde İçerikleri	46
4.3. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin İndireme potansiyeli Analizi	46
4.4. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerinin CUPRAC Analizi	46
4.5. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin FRAP Analizi	46
4.6. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi	47
4.7. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin Lipit Peroksidasyonunu Engelleme Kapasitesi	47
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>53</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>60</b>
<b>7.KAYNAKLAR</b>	<b>61</b>
<b>EKLER</b>	<b>70</b>
EK 1. Hidrojen Peroksit Konsantrasyon Taraması	70
EK 2. Farklı Özüt Konsantrasyonlarının Antioksidan Etkileri	70
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>71</b>

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>		<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b>	ROT ve RAT'larda radikal ve radikal olmayan gruplar	<b>6</b>
<b>Tablo 2.</b>	Hücreler içindeki serbest radikal kaynakları	<b>10</b>
<b>Tablo 3.</b>	Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanların sınıflandırılması	<b>16</b>
<b>Tablo 4.</b>	Bazı enzimatik olmayan antioksidanlar	<b>19</b>
<b>Tablo 5.</b>	Flavonoidlerin Sınıflandırılması	<b>24</b>
<b>Tablo 6.</b>	Kullanılan kimyasallar ve markaları	<b>32</b>
<b>Tablo 7.</b>	Kullanılan cihazlar ve markaları	<b>33</b>
<b>Tablo 8.</b>	Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları	<b>34</b>
<b>Tablo 9.</b>	Toplam fenolik madde miktarı tayini pipetleme miktarları	<b>37</b>
<b>Tablo 10.</b>	Toplam flavonoid madde tayini için pipetleme miktarları	<b>38</b>
<b>Tablo 11.</b>	Fındık zurufunun antioksidan aktivite test sonuçları	<b>47</b>
<b>Tablo 12.</b>	Fındık zuruf bitkisine ait özütün toplam DPPH radikal temizleme aktivitesi	<b>47</b>
<b>Tablo 13.</b>	Fındık Zurufu özütlerinin MDA düzeyleri	<b>48</b>
<b>Tablo 14.</b>	Antioksidan parametrelerinin birbirleriyle ilişkileri	<b>49</b>
<b>Tablo 15.</b>	Tarımsal atıkların antioksidan etkisini inceleyen çalışma sonuçlarının karşılaştırılması	<b>59</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Serbert oksijen radikalleri	7
Şekil 2.	Serbest Radikallerin Hücrel Hedefleri	11
Şekil 3.	Reaktif Oksijen Türlerine Bağlı Oluşan Lipit Peroksidasyon Ürünleri	12
Şekil 4.	Lipid Peroksidasyonu Şeması	13
Şekil 5.	Oksidatif Denge	14
Şekil 6.	Glutasyonun yapısı	19
Şekil 7.	Bütillenmişhidroksitoluen	20
Şekil 8.	Fenolik asitlerin temel kimyasal yapısı	23
Şekil 9.	Flavonoidlerin temel yapısı	23
Şekil 10.	Bitkilerde yaygın olarak buluna bazı flavonoidlerin yapıları	25
Şekil 11.	Aliminyum (III) klorürün kuersetin ile oluşturduğu kompleks	27
Şekil 12.	Cu(II)' nin Cu(I)'e indirgenmesi	27
Şekil 13.	Fe(III)-TPTZ kompleksinin Fe(II)'ye indirgenmesi	28
Şekil 14.	DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan (A-H) ile reaksiyonu	29
Şekil 15.	Eritrosit yapısı	30
Şekil 16.	Galik asit standart grafiği	37
Şekil 17.	Kuersetin standart grafiği	39
Şekil 18.	Askorbik asit standart grafiği	40
Şekil 19.	Trolaks standart grafiği	41
Şekil 20.	Trolaks standart grafiği	42
Şekil 21.	BHT ve Fındık Zurufu DPPH grafiği	43
Şekil 22.	MDA ve TBA'nın tepkimeye girdiği reaksiyon	44
Şekil 23.	TPFMM ve CUPRAC aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	49
Şekil 24.	TPFMM ve FRAP aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	50
Şekil 25.	TPFMM ve İP aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	50
Şekil 26.	TFMM ve CUPRAC aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	51
Şekil 27.	TFMM ve FRAP aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	51
Şekil 28.	TFMM ve İP aktvitesi arasındaki korelasyon grafiği	52

## RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Fındık Zurufu	4
Resim 2.	Kurutulmuş fındık zurufu ve fındık zurufu atığı	5
Resim 3.	Normal ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> hasarlı eritrosit yüzeyi	31



## KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

### Kısaltmalar

<b>BHA</b>	:Bütillenmişhidroksianisol
<b>BHT</b>	:Bütillenmişhidroksitoluen
<b>CAT</b>	:Katalaz
<b>CUPRAC</b>	:Bakır(II) İndirgenme Antioksidan Kapasitesi
<b>DMSO</b>	:Dimetilsülfoksit
<b>DNA</b>	:Deoksiribo nükleik asit
<b>DPPH</b>	:2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
<b>DTNB</b>	:5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit)
<b>FRAB</b>	:Demir (III)İndirgeme Kuvveti
<b>FCR</b>	:Folin-Ciocalteu Reaktifi
<b>GAE</b>	:Gallik asit eşdeğeri
<b>GSH</b>	:İndirgenmiş glutatyon
<b>GSH-Px</b>	:Glutatyon peroksidaz
<b>GR</b>	:Gulutasyon redüktaz
<b>GSSG</b>	:Yükseltgenmiş glutatyon
<b>GST</b>	:Glutatyon-S-transferaz
<b>EC<sub>50</sub></b>	:%50 İnhibisyon konsantrasyonu
<b>M</b>	:Molarite
<b>MDA</b>	:Malondialdehit
<b>Mmol</b>	:Milimol
<b>mL</b>	:Mililitre
<b>mM</b>	:Milimolar
<b>N</b>	:Normalite
<b>ORAC</b>	:Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
<b>pH</b>	:Hidrojen İyonu Aktivitesi
<b>PBS</b>	:Tuzlu Fosfat Tamponu
<b>ROT</b>	:Reaktif Oksijen Türleri
<b>RBC</b>	:Eritrosit
<b>RKT</b>	:Reaktif Klor Türleri
<b>RNS</b>	:Reaktif Azot Türleri
<b>ROS</b>	:Reaktif Oksijen Türleri

<b>SD</b>	:Standart Sapma
<b>SH</b>	:Standart Hata
<b>SOD</b>	:SüperoksidDismutaz
<b>SOR</b>	:Serbest Oksijen Radikalleri
<b>SDS</b>	:Sodyum dodesil sülfat
<b>TBA</b>	:2-Tiyobarbütirik asit
<b>TBARS</b>	:“Tiobarbutiricacidereaktivesusstance”
<b>TPTZ</b>	:Tripiridiltriazin
<b>TEAC</b>	:Trolaks Eşdegeri
<b>vd.</b>	:Ve Diğerleri
<b>vb.</b>	:Ve Benzeri
<b>dk.</b>	:Dakika

#### Simgeler

<b>Cu</b>	:Bakır
<b>Fe</b>	:Demir
<b>°C</b>	:Santigrat derece
<b>µg</b>	:Mikrogram
<b>µL</b>	:Mikrolitre
<b>g</b>	:Gram
<b>%</b>	:Yüzde
<b>•</b>	:Radikal

#### Formüller

<b>HOCl</b>	:HipoklorikAsit
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	:Hidrojen peroksit
<b>HCl</b>	:Hidroklorik Asit
<b>HO<sub>2</sub>•</b>	:Perhidroksil radikali
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	:Potasyum Ferrisiyanür
<b>NaCl</b>	:Sodyum klorür
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	:Sodyum karbonat
<b>NADPH</b>	:Nikotinamidadeninükleotit fosfat
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	:Sodyum Monohidrojen Fosfat
<b>NaN<sub>3</sub></b>	:Sodyum Azid
<b>NaOH</b>	:Sodyum Hidroksit

<b>NO<sup>•</sup></b>	:Nitrik oksit
<b>NO<sub>2</sub></b>	:Azot dioksit
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	:Singlet Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	:Süperoksit radikali
<b>OH<sup>•</sup></b>	:Hidroksil radikali
<b>KCl</b>	: Potasyum klorid



## ÖZET

### **Fındık Zurufunun Metanolik Özütüne Ait Biyolojik Etkinliğin Araştırılması**

Organizmada serbest radikallerin temizlenememesi veya antioksidanların yetersiz kalması sonucunda başta kalp damar hastalıkları, diyabet, katarakt, sinir sistemi hastalıkları gibi birçok hastalık oluşmasına neden olmaktadır. Doğal antioksidanlar ise bitkilerde bulunarak diyetle vücudumuza alınmaktadır. Fındığın sert kabuğunu saran ve harmanlama işleminden sonra açığa çıkan fındık zurufu atığı, hayvanlara altlık olarak kullanılmakla birlikte yakılıp bertaraf edilerek önemli bir kısmı değerlendirilmemektedir. Bu tez çalışmasının amacı fındık atığının toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesidir. Çalışmada kullanılan fındık zurufu Giresun ili Bulancak ilçesinden temin edilmiştir. Fındık zurufunun metanolik özütü hazırlanarak toplam polifenolik madde miktarı Singleton ve arkadaşlarının belirttiği, flavonoid madde miktarı Salatino ve Wosiky, FRAP aktivitesi Benzei ve Strain, CUPRAC aktivitesi Apak ve arkadaşları, indirgeme potansiyeli aktivitesi Oyaizu metodu, DPPH radikali temizleme aktivitesi Cuendet ve arkadaşlarının belirlediği metodlara göre spektrofotometrik olarak çalışılmıştır. Eritrosit hücrelerinde hidrojen peroksit ile oksidatif stres oluşturularak fındık zurufu özütü ilavesiyle lipit peroksdasyonu engelleme kapasitesi Stock ve Dormandy metoduna göre spektrofotometrik olarak çalışılmıştır. Fındık zurufunun TPFMM 128 mg GAE/g özüt, TFMM 5.8 mg Kuersetin/g özüt, FRAP aktivitesi 173 mg Trolaks/g özüt, CUPRAC aktivitesi 285 mg Trolaks/g özüt, indirgeme potansiyeli aktivitesi 57 mg Askorbik asit/g özüt, DPPH indirgenme potansiyeli IC<sub>50</sub> değeri 0.060 mg/mL olarak tespit edilmiştir. MDA düzeyi üzüm çekirdeği (247 ± 29mg/g Hb) ve standart olarak kullandığımız BHT (109 ± 10mg/g Hb) ile karşılaştırıldığında en fazla fındık zurufunda (344± 17mg/g Hb) tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre atık bir ürün olmasına rağmen fındık zurufunun oldukça yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu ve hücresel ortamda bu etkisini koruduğu söylenebilir. Endüstriyel olarak medikal ve kozmetik gibi farklı amaçlarda ve fonksiyonel olarak gıda katkı maddesi olarak değerlendirilebilecek değere sahip olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Serbest radikal, Oksidatif Stres, Antioksidan, Fındık zurufu, Eritrosit

## ABSTRACT

### **Investigation of The Biological Activity of Methanolic Extract of Hazelnut Husk**

Many diseases such as cardiovascular diseases, diabetes, cataracts and nervous system diseases occur as a result of failure removing free radicals or lack of antioxidants in the organism. The most important source of natural antioxidants are plants and taken into our body with diet. The hazelnut slag waste (leafy cover) that is surrounding the hard shell of it and by-product formed after blending is used as an animal bed or burned, so an important part of this waste is not evaluated accordingly. The aim of this thesis is to determine the total phenolic content and antioxidant properties of hazelnut leafy cover. The leafy cover of hazelnut used in the present study was obtained from Bulancak district of Giresun province. The methanolic extract of hazelnut leafy cover was prepared and, the total contents of polyphenolic and flavonoid were estimated by Singleton, and Salatino and Wosiky, respectively. Activities of FRAB, CUPRAC, reduction potential and DPPH radical cleaning were spectrophotometrically determined by Benzei and Strain, Apak, Oyaizu and Cuendet methods, respectively. *Oxidative damage, induced* by exposure of *erythrocytes* to  $H_2O_2$  was generated, and the capacity to prevent lipid peroxidation with the addition of the extract was studied spectrophotometrically according to Stock and Dormandy method. The contents of TPFMM and TFMM of the methanolic extract were 128 mg GAE/ g extract and 5.8 mg Quercetin/g extract. Activities of FRAP, CUPRAC, reduction potential and DPPH reduction ( $IC_{50}$ ) were 173 mg Trolox/g extract, 285 mg Trolox/g extract, 57 mg ascorbic acid/g extract and 0.060 mg/mL, respectively. MDA levels were found to be lower in the group with hazelnut leafy cover ( $344 \pm 79$  mg/g Hb) compared to the oxidative stress group ( $824 \pm 79$  mg/g Hb). According to these results in the study, it can be considered that hazelnut leafy cover has a high antioxidant feature and preserves this effect in the cellular microenvironment although it is a waste product. Hazelnut leafy cover is believed to have the potential to be industrially evaluated as a food additive for different purposes such as medical and cosmetic.

**Keywords:** Oxidative Stress, Antioxidant activity, hazelnut leafy cover waste, erythrocyte.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütüncce (WHO) baharat ve tedavi etmek için kullanılan bitkilerin sayısının dünyada 20.000 civarında olduğu rapor edilmiştir. Antik devirlerden bu yana bitkiler gıdalara koku, tat, renk verme ve ilaç olarak kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Ayrıca bitkisel çay, tatlandırıcı ve çeşni şeklinde besin takviyeleri olarak beslenmede yararlanılmaktadır. Kozmetik ve parfümeride kullanılmasının yanında, sanayinin farklı dallarında böcek ilaçları ve parlatici olarak geniş bir alanda kullanılmaktadır. Bu amaçla bitkilerin belirli miktarda hazırlanmış ve kurtulmuş drog denilen kısımlarından (gövde, yumru, kök, kök-sap veya odunsu yapı, kabuk, yaprak, çiçek, meyve, tohum ve herba) faydalanılmaktadır (Temel vd., 2018).

İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgular insanların varoluşundan bu yana bitkiler ile ilişkisinin başladığını göstermektedir. İnsanlar deneme ve yanılma ile şifalı olarak adledtikleri birçok bitkiyi hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanmışlardır. Özütlcr hazırlanarak bitkilerin ilaç olarak kullanılması, Çin'de M.Ö. 2700' lere kadar uzandığı düşünölmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Bitkilerin kullanılmasına yönelik ilk yazılı kayıtlar ise yapılan kazılar sonucunda Eski Mısır'da bulunduğu kabul edilmektedir. Mısır'da M.Ö. 2500'lerde ölülerin mumyalanması işlemlerinde nane ve çeşitli bitkilerin kullanıldığı ve bu bitkilerden temin edilen özütlcrin cesetlere muamele edilmesi ve uygulanan diğer yöntemlerle yüzyıllarca bozulmadan saklanabilmesinin mümkün olduğu görölmüşür (Başoğlu, 1982).

Gelişen ve ilerleyen teknoloji, radyasyon, ağır metaller, çevre kirliliği, tarım ilaçları, kontamine sular ve canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi birçok etken insan vücudunda serbest radikallerin oluşmasına sebep olmaktadır (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Serbest radikaller hücrelerin membranına, hücre yapısında bulunan lipitlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar vermekte ve bu zararlar neticesinde kanser, kronik kalp hastalıkları, karaciğer tahribatı ve diyabet, gibi birçok hastalığa neden olmaktadır (Veliöğlu, 2000). Serbest radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve bunlara bağlı hastalıkların oluşmasını engelleyebilmek için vücuttaki antioksidan sistem devreye girmektedir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Serbest radikaller ve antioksidanların düzeyleri arasında bir denge mevcuttur ve bu dengenin radikaller lehine bozulduğu durumlarda, vücutta oksidanların miktarı artarak oksidatif stres adı verilen hücre hasarının yanı sıra birçok patolojik durum meydana gelmektedir (Büyükoğlu ve Aslan, 2018). Doğal



besinlerden alınan antioksidanlar; serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri stabilize eden ve yakalayan molekülerdir (Elliot, 1999). Bitkilerin doğal antioksidan özellikleri yapılarındaki bazı kimyasal bileşiklerden kaynaklanmakta ve bu bileşikler arasında C ve E vitaminleri, aminoasitler, karotenoidler, organik asitler, flavonoidler, fenolik bileşikler, melanoidinler, sülfidler, ligninler, fitatlar, kumarinler, terpenler, indoller, glukonatlar, izotiyosiyanatlar, fitalidler sayılabilmektedir (Velioglu, 2000).

Türkiye coğrafi konumu, iklim ve bitki örtüsü çeşitliliği, tarımsal potansiyeli, geniş yüz ölçümüne sahip olması sebebiyle tıbbi ve aromatik bitkiler yanında ekonomik değere sahip bitkiler açısından da öne çıkan ülkelerden biridir (Bayram vd., 2010).

Dünyada 2017 yılı itibariyle, 672 bin hektar alanda 1 milyon ton fındık üretimi söz konusudur. Dünyanın en büyük fındık üreticisi konumunda olan Türkiye, dünya üretim alanının %65.3'üne, üretim miktarının ise %67.1'ine sahiptir. Dünya fındık üretiminde Türkiye'yi İtalya (%13.1), Azerbaycan (%4.3) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) (%2.9) izlerken, geriye kalan %12.6'lık pay diğer ülkelere aittir. Türkiye'de fındık tarımı, ilk olarak Doğu Karadeniz bölgesindeki Ordu, Giresun ve Trabzon illerinde başlamış, daha sonra Batı Karadeniz ve Marmara bölgelerindeki illere yayılmıştır. Türkiye'de fındık yetiştiriciliği, TÜİK, 2019 verilerine göre 2017 yılı itibariyle 33 il ve 502 bin işletmede yapılmaktadır (Topuz vd., 2019).

Karadeniz Bölgesi, fındık yetiştirmede hasat ve harman işlemlerinden sonra geriye kalan fındık atık/artıklarından dolayı önemli bir potansiyele sahiptir. Kabuklu fındığın harmanlama işleminden sonra açığa çıkan fındığın sert kabuğunu saran fındık zuru atığının bir miktarı, köylerde hayvanların altına serilerek kullanılmakta ancak, önemli bir kısmı çoğunlukla rastgele yakılıp bertaraf edilerek herhangi bir şekilde değerlendirilmemektedir (Demirel ve Gürdil, 2017). Bu tez çalışmasının amacı, Giresun yöresinden temin edilen fındık zuru atığının toplam fenolik madde miktarı, flavonoid miktarı, diğer yöntemlerle antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve hücre ortamda oluşturulan oksidatif stresin fındık zuru atığına ait özütlerde hücrede meydana getirdiği etkiyi incelemektir. Yapılan literatür araştırmalarında fındık zuru atığı ile ilgili, flavonoid miktarı, FRAP, CUPRAC aktivitesi ve hücre ortamda oluşturulan oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmadığından bu tez çalışmasının özgünlük değeri olduğu düşünülmektedir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Fındık Tanımı

Fındık sözcüğü; Antik Çağda Karadeniz'in adı olan "Pont Exinus"tan türetilen "pontik" sözcüğünden meydana gelmiştir. Pontos kıyılarından getirildiği için, fındığa "Pontos cevizi" denildiğini kaydedilmiştir. Türklerin orta asya'da olduğu devirde fındığa "kosik" ya da "koşuk", batı Türklerin zamanında "çetlevük", Anadolu Türkleri zamanında ise Arap etkisi ile "bunduk" denilmiş ve bu sözcük zamanla değişerek "fındık" şeklinde adlandırılmıştır (Tarım ve Orman, 2020). Türkçe sözlükte "fındık:1. Kayıngillerden, kuzey yarım kürenin ılık yerlerinde ve yurdumuzun genellikle Doğu Karadeniz bölgesinde yetişen, boyu 6-7 m, yayın tepeli bir ağaççık (*Corylus avellana*); 2. Bu ağaççığın sert bir kabuk içinde bulunan yağlı, nişastalı ürünü" şeklinde tanımlanmaktadır (Bulut,2018).

#### 2.1.1. Ekolojik koşulları

Fındık bitkisi, saçak kök yapısına sahip bir kültür bitkisi olup, çok derinlere kök salamaz (en fazla 70-80 cm). Toprak seçiciliği pek olmamasına rağmen humus oranı yüksek derinliği fazla olan topraklara daha iyi adepte olmaktadır. Ayrıca kum oranı fazla killi taban arazilerde verimli üretim yapılamamaktadır. Fındık bitkisi, "ılıman iklim bölgelerinin bodur kalmış bir ağacıdır" diye tanımlanmaktadır. Türkiye'de kültüre alınmış çeşitleri, yaklaşık 3 ila 5 m. İtalya, İspanya ve ABD gibi ülkelerde yetiştirilen çeşitleri ise 6 ila 8 m. boylanabilen küçük ağaççıklar olarak dikkat çekmektedir. Anayurdu Karadeniz bölge kıyı kesimi, Makedonya ve Trakya çevreleri olan Türk fındığı *corylus avellana L.* türü 20 ila 22 m. kadar büyüeyebilen bir ağaç şeklinde görülmektedir. Bu şekildeki fındık bitkileri Altındere Ulusal parkı (Trabzon-Maçka) içinde korunmaya alınmışlardır. İklim koşulları bakımından, ılıman ve nemli bölgelere çok iyi adepte olmasının yanı sıra yağış rejiminin düzenli olması gerekmektedir. Rekolteve randımanı büyük ölçüde geç don faktörü ve kurak yaz koşulları düşürmekle beraber karasal iklim bölgelerinde fındık bahçelerine rastlanmamaktadır.

Ülkemizde %86.6 karadeniz, %13.1 Marmara, %0.3 Akdeniz-Doğu Anadolu-Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişmektedir (Doğanay, 2012). Karadeniz bölgesinde özellikle Ordu, Giresun ve Trabzon şehirleri fındığın merkezini oluşturmaktadır. 23 Şubat 1924' tarihine ait bir "Fındık raporu" yayınlamış ve bu rapordan fındıkla ilgili halk arasında bir slogan çıkmıştır. Bu slogan "Fındığın başkenti Giresun, sarayı Bulancak, tahtı

Ayvasıl'dır şeklindedir (Bulut, 2018). Kıyı kısımlarda temmuz ayının sonuna doğru yüksek yerlerde ise ağustos ayının ikinci haftasında dalından toplanacak olgunluğa erişmektedir (Doğanay, 2012).

### 2.1.2. Fındık zurufu

Fındık zurufu, olgunlaşma döneminde tek parçalı boru şeklinde yeşil renkli ağaç üzerinde fındık meyvesini saran koruyucu yapraktır. Fındığın tür çeşitliliğine göre meyveyi kısmen veya tamamen kaplar. Ucu çok dilimli veya az dilimli olarak değişkenlik gösterir şeklinde tanımlanmıştır (Resim 1) (Giresun ziraat odası, 2015). Başka bir ifade şekli olarak; Fındık zurufu, ‘‘ kabuklu fındığın harmanlanma işlemi bittikten sonra ortaya çıkan fındığın sert dış kabuğunu saran bir yan ürünüdür’’ şeklinde de tanımlanmaktadır.



**Resim 1.** Fındık Zurufu

Kabuklu fındığın toplamda üretilen kısmının 1/3'ü fındık zurufu atığı olarak ortaya çıkmakta ve ülkemizde her yıl kuru bazda fındık üretimine bağlı olarak yaklaşık olarak 200 bin ton fındık zurufu atığı oluşmaktadır (Resim 2) (Bilgin vd., 2015). Fındık zurufunun bir kısmı hayvanların altına köy yerlerinde serilerek kullanılmakta ancak, önemli bir miktarı herhangi bir şekilde değerlendirilme yöntemine gidilmeyip ekseriyetle rastgele yakılarak bertaraf edilmektedir (Demirel ve Gürdil, 2018). Ayrıca fındık zurufu ‘‘kompost’’ yapılarak fındık ve sebze bahçelerimizde doğal gübre olarak kullanılabilir (Tarım ve orman, 2020).



**Resim 2.** Kurutulmuş findık zurufu ve findık zurufu atığı

Kacar&Katkat (1998), findık zurufunun, pH ve tuzluluk bakımından da uygun değerlere sahip olduğunu, kapsadığı besin elementleri bakımından ise, azot sınır değerler içerisinde yetersiz miktara sahipken, fosfor, potasyum ve mikro elementler fazla ve yeter değerlere sahip önemli bir atık olarak değerlendirilmişlerdir (Özenç ve Şahin, 2018).

### **2.1.3. Fındık zurufunda bulunan fenolik asitler**

Alasalvar ve ark.'larının 2006 yılında Shahidi ve ark.'larının 2007 yılında yapmış oldukları HPLC çalışmasında, findık zurufunun içerdiği fenolik asit içerikleri serbest ve esterleşmiş formları çalışılmıştır. Bu fenolik asitlerden gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, sinapik asit değerleri saptanmıştır. Ayrıca tannik asit miktarları da belirlenmiştir (Alasalvar vd., 2006; Shahidi vd., 2007).

## **2.2. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküller yapılarıdır (Halliwell ve Gutteridge, 1985). Eşleşmemiş elektron bulundurmalarından dolayı serbest radikaller oldukça reaktif ve kararsızdır. Son yörüngelerindeki eksik olan elektronu tamamlayabilmek için başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Elektronlarını eşleşmiş (çiftler) halde bulduran atom veya moleküller ise kararlı yapıya sahip olduklarından dolayı diğer maddelerle serbest radikaller kadar kolay reaksiyona girmezler. Bu maddeler de nonradikaller olarak tanımlanır (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikaller elektrikselsel yük olarak negatif yüklü, pozitif yüklü veya nötral olabilirler.

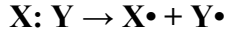
Serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri (RAT), reaktif kükürt türleri (RST), reaktif klor türleri (RKT) olarak sınıflandırılmakla birlikte biyolojik sistemlerde en önemli olan oksijen kaynaklı serbest radikallerdir (Halliwell ve Gutteridge, 2007). ROT ve RAT nonradikal reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilir (Tablo 1). Radikal olmayanlar ayrıca ‘‘oksidanlar’’ olarakta adlandırılır (Sen vd., 2010).

**Tablo 1.** ROT ve RAT’larda radikal ve radikal olmayan gruplar (Karabulut ve Gülay, 2016)

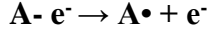
<b>Radikal Türleri</b>	<b>Radikal Olmayan Türler</b>
<b>Reaktif Oksijen Türler (ROT)</b>	<b>Radikal Olmayan Oksijen Türleri</b>
✓ O <sub>2</sub> <sup>·</sup> (Süperoksit)	✓ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Hidrojen Peroksit)
✓ OH <sup>·</sup> (Hidroksil)	✓ <sup>1</sup> O <sub>2</sub> (Singlet Oksijen)
✓ ROO <sup>·</sup> (Peroksil)	✓ O <sub>3</sub> (Ozon)
✓ RO <sup>·</sup> (Alkoksil)	✓ HOCl (Hipokloröz asit)
✓ HO <sub>2</sub> <sup>·</sup> (Hidroperoksil)	✓ HOBr (Hipobromöz asit)
✓ LOO <sup>·</sup> (Lipitperoksil)	
<b>Reaktif Azot Türler (RAT)</b>	<b>Radikal Olmayan Azot Türleri</b>
✓ NO <sup>·</sup> (Nitrik oksit)	✓ HNO <sub>2</sub> (Nitrik asit)
✓ NO <sub>2</sub> <sup>·</sup> (Azot dioksit)	✓ NO <sub>2</sub> (Azotdioksit)
	✓ NOOO <sup>·</sup> (Peroksinitrit)
	✓ NO <sup>+</sup> (Nitroksil katyonu)
	✓ NO <sup>-</sup> (Nitroksil anyonu)
	✓ N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (Diazottetroksid)
	✓ N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Diazottrioksit)
	✓ ONOOH (Peroksinitrik asit)
	✓ NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> (Nitronyumkatyonu)
	✓ NO <sub>2</sub> Cl (Nitrilklorid)
	✓ ROONO (Alkil peroksinitrit)

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile meydana gelmektedir.

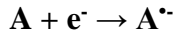
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi



2. Normal bir molekülün bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. (Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomların birinde kalır).



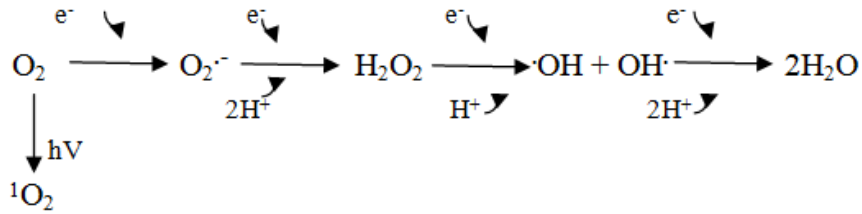
3. Tek bir elektronun normal bir moleküle eklenmesi



Meydana gelen bu radikaller membran lipitlerini, hücre içi proteinleri ve nükleik asitleri etkileyerek bu moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını bozarak hücrel hasar meydana getirirler. En fazla elektron transferi sonucunda biyolojik sistemlerde serbest radikaller meydana gelmektedir (Özcan vd., 2015; Meral vd., 2012).

### 2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

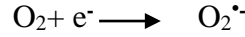
SOR, serbest radikallerin dış orbital yörüngesinde eşlenmemiş bir elektron ile bir oksijen atomu bulunması ile oluşur. Oksijen molekülünün indirgenmesi ya da oksijene iyonize radyasyonun etki etmesiyle de meydana gelmektedir. Bu radikallerden en fazla önem arz edenleri süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksittir (Şekil 1).



Şekil 1. Serbest oksijen radikalleri (Ekici ve Sağdıç, 2008)

**Singlet oksijen ( ${}^1O_2$ )**, moleküler oksijenin ( $O_2$ ) yüksek enerji ile uyarılması neticesinde elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin tersi yönünde başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşmaktadır. Singlet oksijen, süperoksit radikalının  $H_2O_2$ 'nin hipoklorit ( $ClO^-$ ) ile reaksiyonu ve nitrik oksit ( $NO$ ) ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir (Çaylak, 2011).

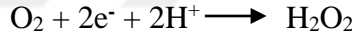
**Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•</sup>),** moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşan yüksek derecede reaktif olmayan bir radikaldir. En önemli yönü vücutta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgenmesinden sorumlu olmasıdır. Çoğunlukla süperoksit oluşumu hücrenin mitokondrisi içinde gerçekleşmektedir. Solunum sırasında mitokondride zincir reaksiyonlarından kaçan bazı elektronlar direk oksijenle reaksiyona girerek süperoksit radikale neden olmaktadır (Valko vd., 2007).



İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu ile süperoksit radikali meydana gelmektedir (Özcan vd., 2015).



**Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),** süperoksit radikale (O<sub>2</sub><sup>•</sup>) bir elektron ilavesiyle ya da O<sub>2</sub>'ye iki elektron eklenmesi ile meydana gelmektedir (Flora, 2007).

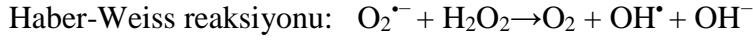
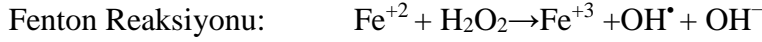
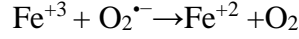


Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçen, uzun ömürlü bir oksidandır (Adam ve Yiğitoğlu, 2012). Biyolojik sistemlerde süperoksitten süperoksit dismutaz enziminin kataliziyle de hidrojen peroksit sentez edilebilir.

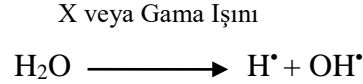


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serbest radikal olmadığı halde serbest radikal oluşumda rol aldığından reaktif oksijen türleri arasında gösterilmektedir. Çünkü hidrojen peroksit, süperoksit radikallerinin ve geçiş metallerinin varlığında hidroksil radikalini oluşturur (Aslankoç vd., 2019).

**Hidroksil radikali (HO<sup>•</sup>),** son derecede reaktif radikallerdir. Yarılanma ömrü 10<sup>9</sup>sn'dir ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olmaktadır (Valko vd., 2007). Hidroksil radikali, Fe<sup>+2</sup> ve Cu<sup>+</sup> veya diğer geçiş elementleri (Co, Zn, Mn, Cr) olması durumunda fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksiti indirgenerek hidroksil radikale (OH<sup>•</sup>) dönüşmesi sonucunda oluşmaktadır. Ayrıca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit radikaliyle reaksiyon vererek hidroksil radikali oluşturmaktadır. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir.



Yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona suyun maruz kalmasıyla da hidroksil radikali oluşmaktadır (Çaylak, 2011).



### 2.2.2. Reaktif Azot Türleri (RAT)

RAT türleri arasında en önemlisi olarak nitrik oksit (NO) gösterilmektedir. NO memeli hücrelerinde nöron, endotel (damar iç yüzü), makrofaj gibi farklı hücrelerde nitrik oksit sentaz enzimi aktivitesine bağlı olarak oksijen varlığında L-argininden meydana gelmektedir. NO radikalleri son derece reaktiftirler ve hızlıca reaksiyona girerek nitrit, nitrat ile en önemlisi olan peroksinitrit anyonunu ( $\text{ONOO}^-$ ) oluştururlar. Peroksinitrit anyonunu fizyolojik pH'da azot dioksit ve hidroksil benzeri radikaller oluşturarak lipid peroksidasyonuna ve damar hasarlarına neden olurlar. Bunun sonucunda da kalp-damar hastalıkları meydana gelmektedir. NO, kan damarlarını genişletirken trombosit kümelenmesini engelleyerek damar daralmasını önlemekte ve biyoaktivitesinin azaldığı durumlarda ise damarlarda tıkanıklık meydana geldiği belirtilmektedir. Ayrıca NO'nun beyinde de nörodejeneratif hasara neden olduğu belirtilmektedir. Az miktarda salınan NO radikali özellikle bağışıklık, kan basıncı düzenleme, nöron sinyal dönüşümü gibi olaylarda olumlu etkileri gözlenen bir radikaldir (Ekici ve Sağdıç, 2008; Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015).

### 2.3. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller hücrelerde, endojen ve ekzojen kaynaklı faktörlere bağlı olarak meydana gelebilmektedir (Meral vd., 2012). Hücre içindeki serbest radikallerin kaynakları Tablo 2'de belirtilmiştir.

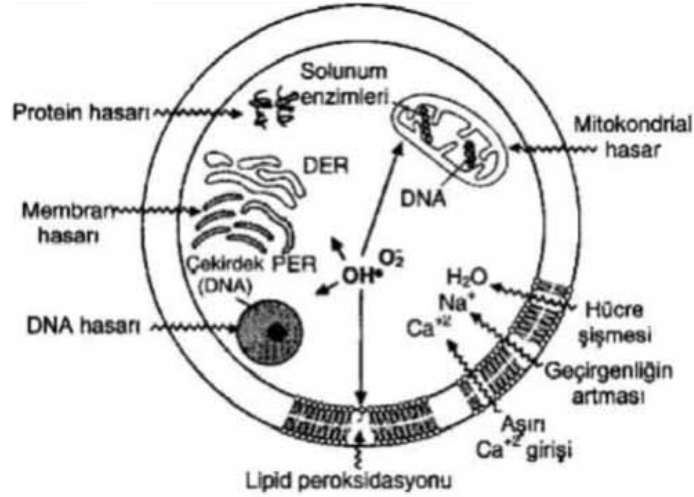


**Tablo 2.** Hücreler içindeki serbest radikal kaynakları

<b>Endojen Kaynaklar</b>	<b>Eksojen Kaynaklar</b>
✓ Mitokondiyal elektron transport zinciri	✓ Kimyasallar
✓ Lipit peroksidasyonu	• Parakuat,
✓ Oksidan enzimler	• dikuat,
• ksantinoksidaz,	• alloksan,
• indolamindioksijenaz,	• doksorubisin gibi
• triptofandioksijenaz,	✓ İlaç oksidasyonları (parasetamol, CCl <sub>4</sub> gibi)
• galaktozoksidaz,	✓ İyonize radyasyon
• siklooksijenaz,	✓ Hava kirliliği
• lipooksijenaz,	• Sigara dumanı,
• monoaminoksidaz	• egzoz gazları,
✓ Faositik hücreler	• ozon,
• eozinofiller,	• kükürt dioksit
• nötrofiller,	➤ Glutasyonu okside eden maddeler
• monositler ve makrofajlar,	
• endotel hücreleri	
✓ Oto-oksidasyonreaksiyonları (epinefrin, Fe <sup>+2</sup> gibi)	

#### 2.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Serbest radikallerin yüksek konsantrasyonlar da yani aşırı artışı ve/veya antioksidan sistemini yetersiz kalması durumunda hücrelerdeki membran lipitlerine, proteinlere, nükleik asitlere, karbohidratlara ve enzimlerin yapılarında ve aktivitelerinde bozulmalara neden olmaktadır (Şekil 2) (Kavas, 1989). Serbest radikallerle uyarılan oksidatif stresin, Parkinson, Alzheimer, immün sistem bozuklukları, diyabet, kanser, kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi yüzden fazla hastalığın oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın ilerleyici olması, yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (katarakt, ateroskleroz) ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Aslankoç vd., 2019).

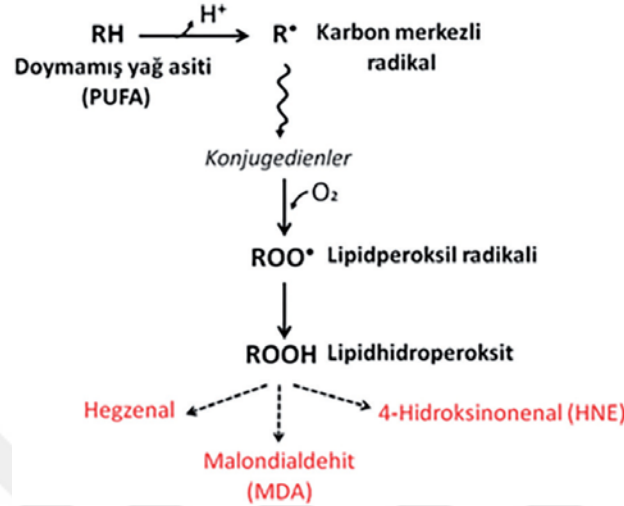


Şekil 2. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Meral vd., 2012)

#### 2.4.1. Lipitlere etkileri

Başlıca  $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet}$  ve peroksil radikali gibi serbest radikallerin lipitler üzerine en önemli etkileri lipit peroksidasyonunu uyarmasıdır. Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin başlattığı ve hücre membranlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyona uğramasına neden olan kimyasal bir olaydır (Gürdil, 2015). Membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerindeki (LH)  $\alpha$ -metilen gruplarından bir H atomunun koparılması ile başlar. Yağ asidinde bulunan çift bağ, kendisine bitişik karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflattığından dolayı hidrojenin koparılması kolaylaşmış olur. Yağ asidi zincirinin karbon atomu üzerinde ortaklanmamış bir elektron kalması sonucu zincir bir lipid radikali ( $L^{\bullet}$ ) özelliği kazanır. Oluşan bu kararsız lipit radikali molekül içi bir düzenlenme ile (çift bağ pozisyonlarında değişiklik yaparak) daha kararlı olan konjugedien yapısı meydana gelir. Konjugedienin moleküler oksijenle birleşmesi lipitperoksil radikallerini ( $LOO^{\bullet}$ ) oluşturur. Bu lipitperoksil radikalleri membranlarda yer alan diğer çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomlarını çıkararak yeni lipit radikallerinin oluşumuna neden olur. Kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipithidroperoksitlere ( $LOOH$ ) dönüşür. Böylelikle olay zincirleme reaksiyonlara dönüşerek devam eder (Şekil 4). Sonuçta sekonder ve son ürünler olan malondialdehit (MDA), 4-Hidroksinonenal, hegzanal isimli aldehitler ile hidrokarbon gazları (pentan etan, gibi) açığa çıkar (Şekil 3). Lipit peroksidasyonu ortamda bulunan antioksidan ve moleküler oksijen miktarına bağlı olarak sonlanabilirken,  $H_2O_2$ , singlet oksijen ve geçiş metal iyonları

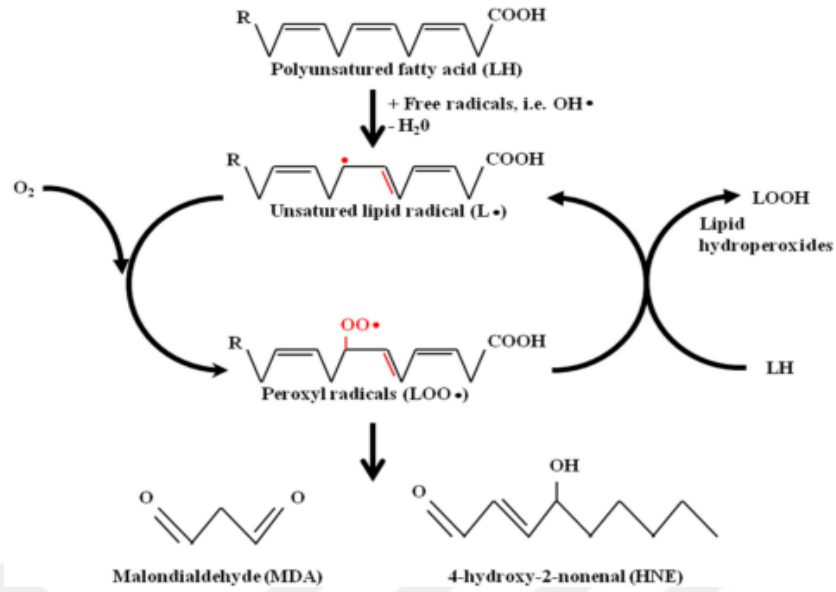
( Fe, Cu gibi) varlığında ise hızlanabilir (Horton ve Fairhurst, 1987; Devasagayam vd., 2003; Gürdil, 2015).



**Şekil 3.** Reaktif oksijen türlerine bağlı oluşan lipit peroksidasyon ürünleri (Özcan vd., 2015)

Lipit peroksidasyonu ortamda zincir kırıcı bir antioksidan yokluğunda biyolojik zarda hasarlar oluşturmaktadır. Meydana gelen hasarlardan dolayı zar akışkanlığında bozulmalar, zar potansiyelinde azalma, zar yapısının hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artışa neden olarak, zarların rüptüre olmasına ve organel içeriğinin sitoplazmaya geçiş yapmasına neden olmakta buda hücrenin hasara uğramasına veya ölümüne neden olmaktadır (Özcan vd., 2015).

Lipit peroksidasyonunun zincir aşamasında meydana gelen lipithidroperoksitler son derece dayanıksızdır; özellikle yapısal bozulmalara zincirde açılmalar şeklinde uğrayarak, ketonlar, aldehydler, alkanlar, alkenler, karboksilikasitler ve polimerizasyon ürünleri gibi çeşitli metabolitlere dönüşürler. Lipit peroksidasyonu sonucu meydana gelen son ürünlerden biri olan MDA, üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelmektedir (Yarsan, 1998). MDA zar komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olmakta ve buda, iyon transportunu, enzimatik aktiviteyi, hücre yüzey determinantlarının agregasyon durumlarını ve intrinsik membran özelliklerini değiştirmektedir. Bu yüzden, hücresel hasarın derecesini ölçmek için MDA yaygın olarak kullanılmaktadır (Sezer ve Keskin, 2014).



Şekil 4. Lipid Peroksidasyonu Şeması (Barrera vd., 2018).

#### 2.4.2. Karbohidratlara etkileri

Karbohidratlar hidroksil gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek karbon atomlarından birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal meydana getirebilirler. Bu radikallerde önemli moleküller de zincir kırılmalarına (hyaluronik asit gibi) neden olur (Karabulut ve Gülay, 2016).

#### 2.4.3. Proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikal hasarından direkt etkilenmekte ve bu etkilenme derecesini belirleyende aminoasit içeriğidir. Doymamış bağ ve sülfür içeren (triptofan, fenilalanin, histidin, sistein gibi) aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolay bir şekilde etkilenerek özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşmaktadır (Büyükoğlu ve Aslan, 2018). Protein oksidasyonuna neden olan ana mekanizmanın, hidroksil radikalının etki etmesi sonucunda polipeptid omurgasında yer alan aminoasitlerin  $\alpha$ -karbon atomlarından, hidrojen atomunun çıkmasıyla başladığı ve böylece hücrede önemli fonksiyona sahip enzimlerde bozulmalar ortaya çıktığı saptanmıştır (Meral vd., 2012).

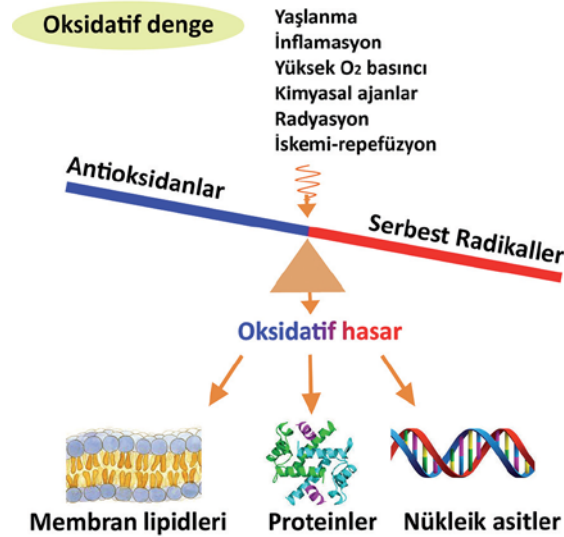
#### 2.4.4. DNA'ya etkileri

DNA ile serbest radikaller reaksiyona girerek oksidatif hasara yol açar. Hidroksil radikali DNA bazları ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girerek hasara neden

olmaktadır. DNA baz hasarı içerisinde en çok bilineni 8-OHdG (8-hidroksi 2'-deoksiguanozin)'dir. Bu baz hidroksi radikalının DNA'daki guanin bazının ya da guanozin nükleozitinin C8 pozisyonuna saldırması ile oluşmaktadır. DNA'da meydana gelen hasarlar onarılmalarına rağmen bazı durumlarda onarılamamakta ve hücrelerde yaşlanma, mutasyon ve hücre ölümünün meydana gelmektedir (Büyükoğlu ve Aslan, 2018).

## 2.5. Oksidatif Stres

Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulup potansiyel olarak hasara yol açması "oksidatif stres" olarak adlandırılmaktadır (Sies, 1997). Yani oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri ile bu radikallerin zararlarını ortadan kaldıran, antioksidanların yetersizliği sonucunda oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır (Şekil 5). Oksidatif stresin artmasından dolayı hücrede artan serbest oksijen radikalleri, hücre içi lipit ve protein yapılarının çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırarak bir hidrojen atomu koparıp zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Bu reaksiyonların sonucunda da hücre içi protein, lipit ve DNA gibi moleküller hasar görmekte ve hücre hasarı veya ölümü meydana gelmektedir (Özcan vd., 2015).



Şekil 5. Oksidatif Denge (Özcan vd., 2015)

## 2.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar, Halliwell ve Gutteridge'nin (1989)'daki tanımına göre okside edilebilir bir maddeye (substrat) kıyasla düşük konsantrasyonlar da bile substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geçiktiren veya inhibe eden maddelerdir (Sies, 1997). Canlı hücrelerde serbest radikaller tarafından okside olabilecek lipit, protein, karbohidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen antioksidan maddelerin gerçekleştirdiği olaya antioksidan savunma denir. Oksidan moleküllerin belirli bir düzeye kadar artması yine belirli bir düzeyde vücutta bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisizleştirilmektedir. (Kasapçopur Özel ve Birdane, 2014).

Antioksidanlar etkilerini bir veya birden fazla mekanizmayı kullanarak gösterebilirler.

1. Toplayıcı etkisi: Serbest oksijen radikallerini daha zayıf moleküllere çevirerek veya tutarak etki gösterirler. Bu şekilde antioksidan enzimler işlev görürler.
2. Baskılama etkisi: Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen atomu ekleyerek inaktif hale dönüştürerek veya aktivitelerini azaltarak etki gösterirler. Vitaminler ve flavonoidler bu özelliindedir.
3. Zincir kırma etkisi: Zincirleme devam eden reaksiyonları belli aşamalarda kırarak etki gösterirler. Mineraller, hemoglobin ve seruloplazmin zincir kırıcı etki gösterirler.
4. Onarma etkisi: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onarıcı etkiye sahiptirler.
5. Hücresel kinaz kayıplarını önleme: Oksidasyon reaksiyonlarını durdururlar.
6. Enzimatik etki: SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini artırarak etkilerini gösterirler (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).

Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırılma Tablo 3' te verilmiştir.

**Tablo 3.** Endojen ve Eksojen kaynaklı antioksidanların sınıflandırılması

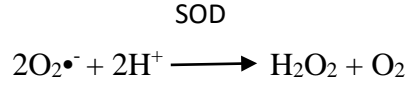
<b>Endojen Kaynaklı Antioksidanlar</b>	
<b>Enzimatik Antioksidanlar</b>	<b>Enzimatik olmayan Antioksidanlar</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Süperoksitdismutaz (SOD)</li><li>➤ Katalaz (CAT)</li><li>➤ Glutasyon S- transferaz (GST)</li><li>➤ Glutasyonperoksidaz (GSH-Px)</li><li>➤ Hidroperoksidaz</li><li>➤ Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Melatonin</li><li>➤ Seruloplazmin</li><li>➤ Transferrin</li><li>➤ Ferritin</li><li>➤ Bilirubin</li><li>➤ Glutasyon</li><li>➤ Ürik asit</li><li>➤ Albümin</li><li>➤ Hemoglobin</li></ul>
<b>Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar</b>	
<b>Doğal Antioksidanlar</b>	<b>Sentetik antioksidanlar</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Vitamin A (<math>\beta</math>-karoten)</li><li>➤ Vitamin C (Askorbik asit)</li><li>➤ Vitamin E (<math>\alpha</math>- Tokoferol)</li><li>➤ Karotenoidler</li><li>➤ Polifenolik Bileşikler</li><li>➤ Minareller</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Bütilehidroksitoluen (BHT)</li><li>➤ Bütilehidroksianizol (BHA)</li><li>➤ Galik asit türevleri</li><li>➤ Propilgalat</li><li>➤ Sodyum benzoat</li></ul>
	<b>İlaç olarak kullanılan antioksidanlar</b>
	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Ksantinoksidaz inhibitörleri</li><li>➤ NADPH oksidaz inhibitörleri</li><li>➤ Barbitüratlar</li><li>➤ Demir şelatörleri</li><li>➤ Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)</li><li>➤ Trolox-C (vitamin E analogu)</li></ul>

### **2.6.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar**

Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (Aydemir ve Karadağ Sarı., 2009).

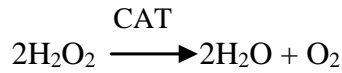
#### **2.6.1.1. Bazı enzimatik antioksidanlar**

**Süperoksit Dismutaz (SOD)**, süperoksit anyon radikaline karşı en önemli enzimatik antioksidandır. Süperoksit radikalini moleküler oksijene ve hidrojen peroksite katalizleyen enzimdir (Zelko vd., 2002).

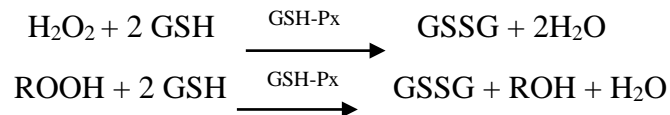


Üç çeşit SOD formu insanlarda bulunmaktadır. İlki hemen hemen tüm memelilerin sitozolde bulunan aktif bölesinde bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) yaklaşık 32 kDa molekül ağırlığındadır. İkincisi mitokondride yer alan aktif bölgesinde manganez (Mn) atomu içeren dört protein alt biriminden oluşan süperoksitdismutaz (Mn-SOD) 40 kDa molekül ağırlığındadır. Üçüncüsü ekstrasellüler hücre dışı sıvılarda bulunan bakır içeren süperoksitdismutaz (Cu-SOD) dır. (Young ve Woodside, 2001).

**Katalaz (CAT)**, kloroplasta bulunmayan mitokondri ve peroksizomlarda lokalize olan hidrojen peroksiti su ve O<sub>2</sub> 'ye dönüştürerek etki gösteren antioksidan bir enzimdir (Singh vd., 2009). Her biri prostetik hem grubuna sahip 4 alt birimden oluşan NADPH molekülü taşıyan bir proteindir. Sitozolda çözünmüş şekild eritrositlerde yüksek konsantrasyonlar da karaciğerde yoğun olarak ve vücuttaki çeşitli doku ve organlarda bulunmaktadır (Young ve Woodside, 2001).

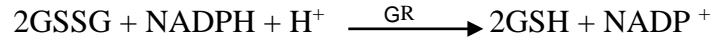


**Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)**, her bir alt birimi prostetik selenyum taşıyan ve 4 alt birimden oluşan sitozolik bir enzimdir. Hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif hasara karşı hücreleri koruyucu etki göstererek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den hidrosil radikali oluşmasını engeller (Karabulut ve Gülay, 2016). Glutasyon peroksidaz elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak glutasyonu yükseltirken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi suya indirgeyerek hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi hemde organik hidroperoksitleri (lipit peroksitleri, DNA hidroperoksitleri) metabolize eder. Glutasyon peroksidazın iki ana tipi vardır. Aktivitesi için selenyuma ihtiyaç duyan formu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve organik hidroperoksitleri selenyum içermeyen formu ise sadece organik hidroperoksitleri metobolize eder (Gürdöl, 2015).



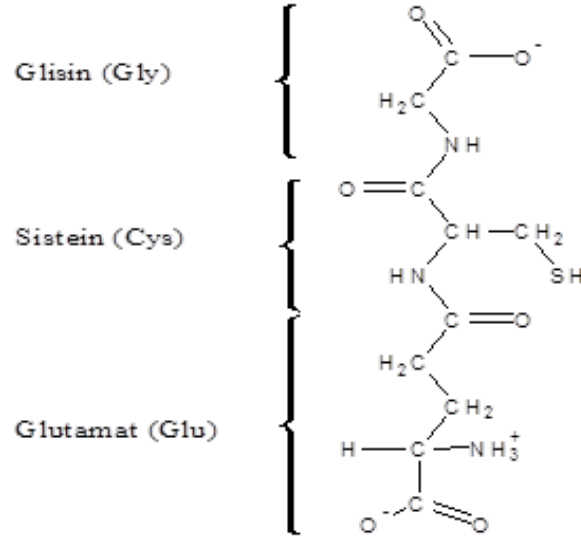


**Glutasyon Redüktaz (GR)**, yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş forma çeviren reaksiyonu katalizleyen bir enzimdir. Glutasyon redüktaz enzimi 2 alt birimden oluşmuş bir dimerdir. Her bir alt birim 3 tane yapısal alan içerir. Bunlar FAD bağlayan alan, NADPH bağlayan alan ve ara yüz alan şeklindedir (Memişoğulları, 2005). Hücre içi glutasyon (GSH) seviyelerinin korunmasını glutasyon redüktaz destekleyerek hücre içinde oksidatif hasarın önlenmesinde dolaylı olmasına rağmen önemli bir role sahiptir (Meister, 1994).



### 2.6.1.2. Bazı enzimatik olmayan antioksidanlar

Glutasyon (GSH), glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir (Şekil 6). GSH'ın yaklaşık 1/3'ü disülfid halinde ve tiyol grubu içeren sistein, koenzim A gibi bileşikler ile beraber bulunmaktadır. GSH'deki sisteinin tiyol grubunun oksidasyonu ile glutatyondisülfid (GSSG) oluşmakta ve antioksidan özelliği kaybetmektedir. GSH'daki en tiyol grubu aktif gruptur ve antioksidan özelliğini tiyol grubu sağlamaktadır (Gözükara, 1997). Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutasyon hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sağlayarak korumaktadır (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Hücre için proteinlerin, sistein, koenzim A gibi moleküllerin tiyol gruplarının korunmasında, askorbat,  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidan moleküllerin korunmasında, DNA sentezinde, hücrelerin oksidatif hasara, toksik bileşiklere karşı korunmasında önemli rol üstlenir. Antioksidanların yetersizliğinde oluşan oksidatif hasar sonucunda glutasyon seviyesi azalmakta ve serbest radikal harabiyetine bağlı olarak kanser, ateroskleroz gibi birçok hastalık ortaya çıkmaktadır (Aksoy Y, 2002).



Şekil 6. Glutasyonun yapısı

Diğer bazı enzimatik olmayan antioksidanlar ise Tablo 4’de belirtilmiştir.

**Tablo 4.**Bazı enzimatik olmayan antioksidanlar

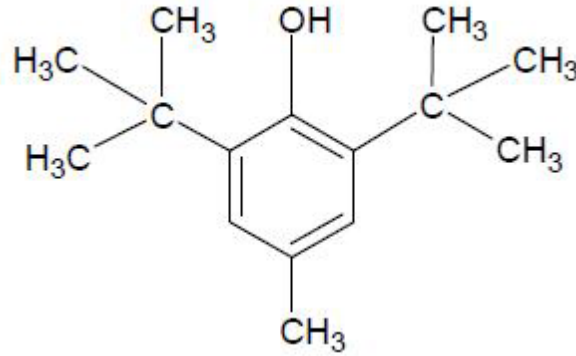
<b>Bazı enzimatik olmayan antioksidanlar</b>		
Albümin	Hem grubu ve bakır bağlar, hipoklorözasiiti ortamdan temizler.	(Roche vd., 2008).
Seruloplazmim	Fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikal oluşumunu engeller	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)
Trasferrin	Fenton reaksiyonunu önler. ( Serbest demir iyonlarını bağlayarak)	(Chauhan vd.,2004)
Laktoferrin	Düşük pH’lı ortamdaki demir iyonlarını bağlar.	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)
Bilirübin	Önemli bir peroksil radikal toplayıcısıdır	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)
Melatonin	Hücresin hemen hemen bütün organellerine lipofilik özellikte olması nedeniyle ulaşarak geniş bir dağılım gösterir. Antioksidan etkiyi süperoksit ve hidroksil ve radikallerini tutarak gösterir.	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)
Ürik asit	Fe, Cu gibi metal iyonlarının şelatlar ve çinko reaktiflerinin etkilerini azaltmaktadır. Ürik asit singlet oksijen, oksijen radikalleri, peroksinitrit anyonu ve peroksinitrik asidin güçlü temizleyicisidir	(Karabulut ve Gülay, 2016).
Sistein	Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)
Glukoz	Hidroksil radikalleini temizler.	(Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)

## 2.6.2. Ekzojen Kaynaklı Antioksidanlar

Ekzojen antioksidanlar ve sentetik antioksidanlar, vitaminler, bitkisel antioksidanlar, ilaç antioksidanlarıdır.

### 2.6.2.1. Sentetik antioksidanlar

Yapay (sentetik) antioksidanlar gıdaların depolama sürelerinin, kalite özelliklerinin, besin değerlerinin uzatılması ve korunması amacıyla uzun yıllardır gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla gıdalara bütillenmişhidroksitoluen (BHT), propilallat, bütillenmişhidroksianisol (BHA) ve tersiyer bütillhidroksikinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar ilave edilmektedir (Şekil 7). Fakat toksik ve karsinojenik etkilerinin olabileceği düşüncesi ile son yıllarda kullanımlarına sınırlama ya da yasaklama getirilmektedir. Bu sebeple son zamanlarda yapılan çalışmalar geniş bir çeşitliliğe sahip olan bitkisel kaynaklardan yenilebilir, ucuz ve güvenilir antioksidanlar ile antimikrobiyel özelliklere sahip bileşiklerin elde edilebilmesine yoğunlaşmaktadır (Okumuş vd., 2015). Bu amaçla çeşitli bitki ekstraktları ve bu ekstratların aktif bileşenlerinin tedavi amaçlı kullanımları araştırılmaktadır.



Şekil 7. Bütillenmişhidroksitoluen (BHT)

### 2.6.2.2. Doğal antioksidanlar

Organizma tarafından sentezlenen (endojen) ya da dışarıdan besinlerle alınan (ekzojen) doğal antioksidanların üretimi organizmanın yaşı artıkça azalır. Bu açığın yerinin doldurulabilmesi için bitkisel antioksidanların iyi bir alternatif olduğu düşünülmektedir (Taner, 2005). Ayrıca tarımsal yan ürünler ve atıklar (yaprak, sap, saman, kabuk, çekirdek vs), antimikrobiyel ve antioksidan aktivite gösteren biyoaktif bileşenlerce zengindir. Bu

ürünler yüksek oranda flavonoid, karotenoid, tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidan bileşik içermektedirler. Sebze, meyve ve sanayi atıkları, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde sentetik antioksidanların yerine değerlendirilmekte ve potansiyel antioksidan kaynağı olarak düşünülmektedir (Okumuş vd., 2015).

#### 2.6.2.2.1. Antioksidan vitaminler

**Vitamin A ( $\beta$ -karoten)**, A vitamini 6 üyeli karbon halkası (siklohekzenil halkası) ve 11 karbonlu (izoprenoid) yan zincirden meydana gelmiştir.  $\beta$ -karoten, A vitamininin öncül maddesi (provitamin) olarak bilinmektedir.  $\beta$ -karotenin antioksidan etkisi singlet oksijen temizleyicisi olması, serbest radikalleri temizlemesi ( $\text{NO}_2\cdot$ ,  $\text{RS}\cdot$ ,  $\text{RSO}_2\cdot$  radikalleri) ve özellikle lipid peroksidasyonunu inhibe eden bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Keha ve Küfrevioğlu, 1998; Eckl vd., 2009).

**Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)**, tokoferoller, kroman halka sistemi (benzen ve piran halkasının birleşimi) ve izoprenoid bir yan zincirden meydana gelmiştir. Benzer yapılarla sahip sekiz farklı ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  gibi) vitamin E formu bulunmakla birlikte biyolojik aktivitesi en fazla ve en bol bulunanı  $\alpha$ -tokoferoldür. E vitamini membran fosfolipitleri için antioksidan koruma sağlamanın yanı sıra hücre membranlarının hasar görmesinin önlenmesinde de rol oynamaktadır. Tokoferol yapısında bulunan OH grubu, bir H atomu ile serbest radikale bir elektron transfer ederek yani çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile açığa çıkan lipid peroksid radikalleri ile reaksiyona girerek tokoferol-radikal ürünü ve radikal olmayan birleşikler oluşturur. Oluşan tokoferol radikali de C vitamini yardımı ile tekrar tokoferole indirgenir. Böylece serbest radikallerin hücre membranı proteinleri ile reaksiyona girmesini yada lipid peroksidasyonunu başlatmasını engeller (Keha ve Küfrevioğlu, 1998; Çaylak E., 2011).

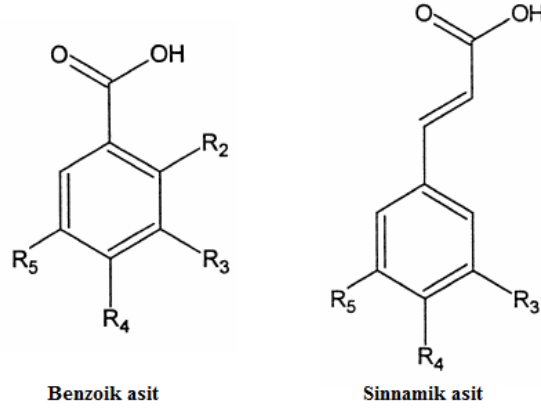
**C Vitamini (Askorbik asit)**, yapıcı 6C'lu monosakkaritlere (glukoz) çok benzeyen, yapısında ketolakton halkası bulunduran ısıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklı, suda çözünen bağırsaktan kolayca emilen bir vitamindir. Kolayca hidrojen atomu vererek dihidroaskorbik aside okside olabilen kuvvetli bir indirgeyici ajan olmasından dolayı güçlü bir antioksidandır (Adam ve Yiğitoğlu, 2012). Süperoksit, singlet oksijen, hidroperoksil, nitrojen dioksit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek onları ortamdan temizler (Carr ve Frei, 1999). Süperoksit ve hidroksil radikallerini temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra  $\text{Fe}^{+3}$ 'ü  $\text{Fe}^{+2}$ 'ye

indirgeyerek demiri Fenton reaksiyonlarına girmeye uygun hale getiren bir ajan olarak davranmaktadır (Memişoğulları, 2005).

#### **2.6.2.2.2. Fenolik Bileşikler**

Bitkilerde doğal olarak bulunan ve antioksidan özelliğe sahip olan fenolik bileşikler çok önemli sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşikler çoğunlukla suda çözünen ve aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren maddelerdir. Basit fenolik (bir tane hidroksil grubu içeren benzen yani fenol) bileşiklerden, yüksek oranda polimerize olmuş çok sayıda fenolik maddeleri içeren çok geniş bir gruptur. Yapılarındaki farklılıklara rağmen fenolik bileşikler ‘polifenoller’ olarak adlandırılmaktadır (Meral ve ark., 2012). Polifenoller az veya çok miktarda hemen hemen tüm meyve sebzelerde bulunurlar ve meyvelerin sebzelere göre polifenol içeriği daha fazladır. Polifenollerin antioksidan aktivitesi demiri indirgeme gücüne ve serbest radikalleri bağlamasına dayanmaktadır. Hücrel sinyal iletimine katkı sağlayıcı ve iltihap önleyici özellikleri yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Kasnak ve Palamutoğlu 2015). Gıdalarda fenolik maddeler (polifenoller) ‘fenolik asitler’ ve ‘flavonoidler’ olmak üzere iki grupta bulunmaktadır (Karadeniz, 1994).

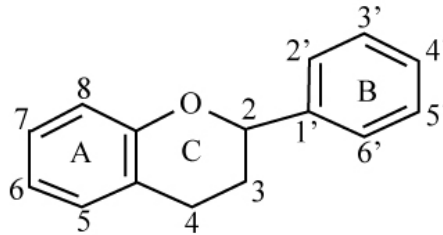
**Fenolik asitler**, aromatik karboksili asitlerin hidroksi türevleri olup aromatik zincirler üzerindeki hidroksil karbonların pozisyonları ve sayılarındaki fark nedeniyle yapısı içinde değişiklik gösterirler (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Fenolik asitler hidroksisünamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır (Şekil 8). Fenolik asitlerden sünamik asitlerin yapısı C6-C3 iskelet yapısına sahiptir. Hidroksisünamik asitlerin başlıca örnekleri; kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sünapik asittir. Hidroksisünamik asitler meyve ve sebzelerde doğal olarak diğer birleşiklerle kombinasyon halinde ve çoğunlukla esterleşmiş halde bulunmaktadır. Kafeik asidin esterlerinden olan klorojenik asit en önemli bitki kaynaklı sünamik asit türevidir. Benzoik asitler ise C6-C1 iskelet yapısına sahip bileşiklerdir. Hidroksibenzoik asitlerin başlıca örnekleri; salisilik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, gallik asit, vanililik asit, siringik asittir. Bu asitler meyve ve sebzelerde genellikle serbest formda ve düşük miktarlarda bulunmaktadır (Karadeniz, 1994).



**Şekil 8.** Fenolik asitlerin temel kimyasal yapısı

Fenolik asitler birçok kronik hastalığın (kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi) başlıca nedeni olan reaktif oksijen türlerine ve serbest radikallere karşı güçlü antioksidan etki gösterirler. Ayrıca vücutta bağışıklığı güçlendirici, iltihap önleyici ve kan dolaşımını düzenleyici özelliklerinden dolayı anti-aging etki gösterirler (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

**Flavonoidler**, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenilpropan (C6-C3-C6) yapısındaki bileşiklerdir. Şekil 9'daki temel yapıda aromatik halkalar A ve B ile hetero halka ise C ile gösterilmektedir. Üç karbonlu bir bileşik olan sinnamik asitten A halkası sentezlenirken, B ve C halkaları fenilpranoid ve şikimat yolu üzerinden glukozdan sentezlenir. Fenil halkalarının propan zincirine farklı pozisyonlarda bağlanması ile flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanlar, izoflavonoidler ve antosiyanidinler meydana gelir (Tablo 5). Ayrıca her grup içinde molekülün aromatik (A ve B) gruplarına bağlanan substituentlerin özelliği, sayısı ve bağlanma bölgesi de yapısal çeşitliliğe neden olan faktörlerdendir. Flavonoidlerin yapılarında yer alan en yaygın substituentler OH gruplarıdır (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).



**Şekil 9.** Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı

Hidrojen verici ve serbest radikal yakalayıcı olarak görev yapan flavonoidlerin fonksiyonları şu yapısal özelliklerine dayanmaktadır. B halkasındaki o-dihidroksi yapısı, radikal forma daha yüksek bir stabilite kazandırmaktadır. C halkasındaki 4-oxo formundaki çift bağlar elektronların yer değiştirmesinden sorumludur. 3' ve 5' hidroksil grupları ise radikal yakalama gücü en yüksek olan gruplardır (Koca ve Karadeniz, 2005). Flavonoidlerin biyoaktiviteleri ve araştırmalarla ortaya çıkan etki mekanizmaları üç şekilde özetlenebilir.

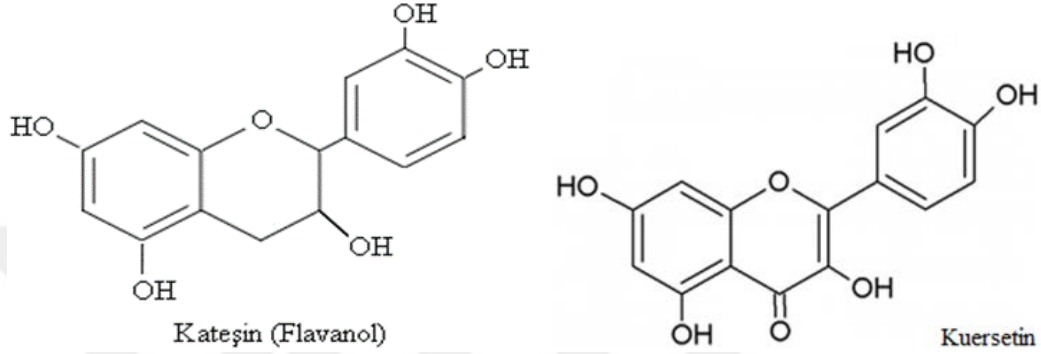
1. Öncelikle flavonoidler antioksidan etkilerini ROS oluşumunu engelleyerek gösterebilirler,
2. Direkt olarak ROS'ı uzaklaştırabilirler,
3. İndirekt olarak lipofilik antioksidanları koruma ve hücrelerin antioksidan enzimlerini artırma yoluyla fonksiyon gösterebilirler (Birman, 2012).

Flavonoidler genellikle gıdalarda tat, renk ve yağ oksidasyonunun engellenmesi, enzimlerin ve vitamin korunmasından sorumludur (Altınç ve Kalkan, 2018). Bitkilerde bulunan bazı flavonoidler Şekil 10' verilmiştir.

**Tablo 5.** Flavonoidlerin sınıflandırılması (Altınç ve Kalkan, 2018)

Sınıf	Flavonoid	Gıda kaynağı
<b>Flavanol</b>	Kateşin, Epikateşin, Epiallokateşin	Çay, meyve çeşitleri, çikolata
<b>Flavon</b>	Chrysin, apienin, Rutinin, Luteolin ve luteolinglukozit	Kırmızıbiber, kırmızı şarap, meyve çeşitleri, karabuğday, domates,
<b>Flavonol</b>	Kaempferol, quercetin, myricetinandtamarixetin	Dutsu meyveler, kırmızı şarap, soğan, zeytinyağı, greyfurt
<b>Flavanon</b>	Naringin, naringenin, taxifolin ve hesperedin	Turungçiller, Limon
<b>Isoflavone</b>	Genistin, daidzin	Soya fasülyesi
<b>Antosiyanin</b>	Apigenidin, cyanidin	Kiraz, dutsu meyveler, çilek

Flavonoidler ve diğerk bitki fenoliklerinin radikalleri temizleme (süperoksit, nitrik oksit ve peroksil gibi)  $\mu$ -tokoferol rejenerasyonu, demir ve bakır şelasyonu foksasyonlarına ek olarak; antiviral, antiallerjik ve antiinflamatuvar etkileri ile ayrıca glutatyon redüktaz, ksantinoksidaz, protein kinaz ve NADH-oksidaz enzimlerini inhibe ettiklerine dair veriler bulunmaktadır (Burak ve Çimen,1999).



**Şekil 10.** Bitkilerde yaygın olarak bulunan bazı flavonoidlerin yapıları

## 2.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite tayinleri, reaksiyon mekanizmalarına göre başlıca iki gruba ayrılabilir. Bunlar;

- Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT)
- Tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET)

Üçüncü bir grup ise hem HAT hem de SET reaksiyon mekanizmalarını içermektedir (Büyüktüncel, 2013).

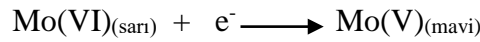
- Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar
  - ✓ Oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi yöntemi (ORAC)
  - ✓ Toplam radikal tuzaklayıcı antioksidan parametre yöntemi (TRAP)
  - ✓ Karotenoid (Krosin) ağartma yöntemi
  - ✓ Toplam Oksiradikal Söndürme Kapasite Yöntemi(TOSC)
- Elektron transferine dayanan reaksiyonlar
  - ✓ Toplam fenolik madde tayini yöntemi (Folin-Ciocalteu yöntemi-FC)
  - ✓ Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi (TEAC)
  - ✓ Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP)



- ✓ 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi
- ✓ Bakır (II) indirgenme antioksidan kapasitesi yöntemi (CUPRAC)

### 2.7.1. Toplam Fenolik Madde Tayin Yöntemi

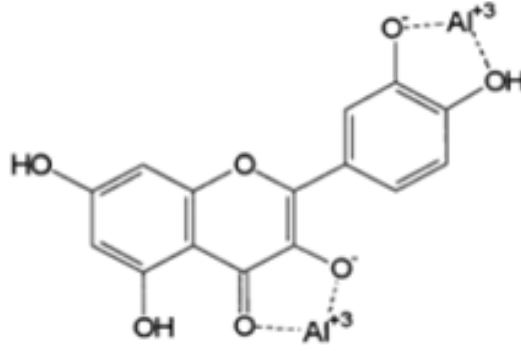
Singleton ve arkadaşları tarafından şaraptaki toplam fenollerin ölçmek amacıyla geliştirilen bu yöntemin temeli; Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile alkali ortamda (sodyum karbonat çözeltisi ile pH=10) fenolik ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transfer edilmesi ile oluşan mavi renkli kompleksin 750-765 nm'de spektrofotometre ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.



Folin reaktifinin fenolik bileşikler için spesifik olmaması nedeniyle, folin reaktifi fenolik olmayan (aromatik aminler,  $\text{Cu}^{+1}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ , sülfür dioksit ve askorbik asit gibi) birçok bileşik tarafından da indirgenebilir. Bu yöntem gerçekte indirgenme kapasitesini ölçmektedir. Yöntem antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde basit, tekrarlanabilir, güvenilir olması yönünden antioksidan çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntemin olumsuz yanı uzun zaman alması ve sulu fazda gerçekleştiği için lipofilik bileşikler için uygulanamamasıdır. Ekseriyetle standart olarak gallik asit kullanılmakta ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak verilmektedir. (Slinkard ve Singleton, 1977; Singleton vd., 1999; Prior vd., 2005; Albayrak vd., 2010).

### 2.7.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Alüminyum klorür, flavon ve flavonol grubu bileşiklerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil gruplarından biriyle kararlı Al-Flavon veya Al-Flavonol kompleksleri oluşturmaktadır. Ayrıca flavonoid grubu bileşiklerin A ya da B halkalarındaki orto-dihidroksi gruplarıyla da alüminyum kararsız kompleksler oluşturmaktadır. Standart olarak kuersetin kullanılmakta ve sonuçlar kuersetin eşdeğeri olarak verilmektedir (Şekil 11) (Kalita vd., 2013).

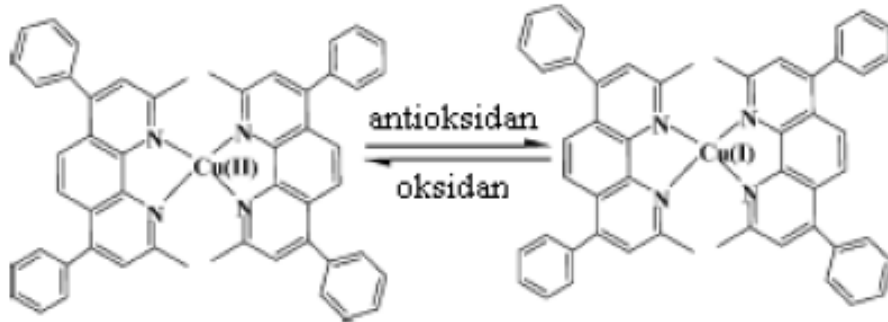


**Şekil 11.** Alüminyum (III) klorürün kuersetin ile oluşturduğu kompleks

Bu yöntem etanol, alüminyum(III) klorür çözeltisi ve potasyum asetat çözeltisinin karıştırıldıktan sonra, üstüne flavonoid çözeltisinin (flavon, flavonol veya isoflavon bileşikleri) eklenmesinden sonra geçen 30 dakikanın bitiminde referansa karşı 415 nm’de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanır (Salatino ve Woisky, 1998).

### 2.7.3. Bakır (II) İyonu İndirgenme Antioksidan Kapasitesi Yöntemi (CUPRAC)

Yöntem neokuproin (2,9-dimetil-1, 10-fenantrolin) çözeltisinin amonyum asetat tamponu ortamında iyi bir yükseltgen olan Cu(II)-neokuproin kompleksinin antioksidanlar tarafından indirgenerek Cu(I)-neokuproin şelatını oluşturması ve 450 nm’de maksimum absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 12) (Apak vd., 2004).



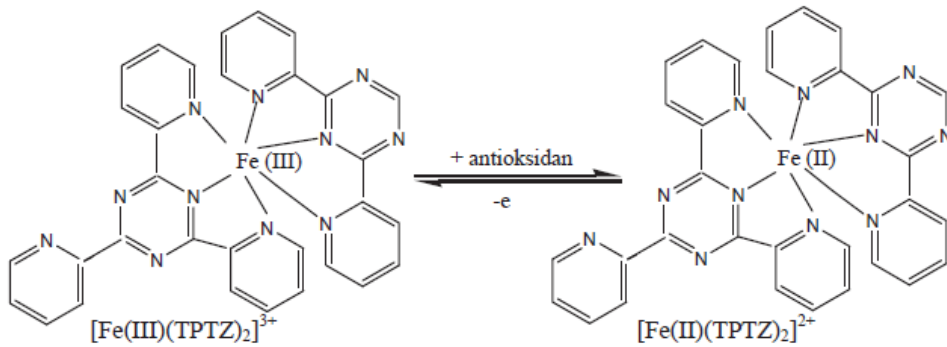
**Şekil 12.** Cu(II)’nin Cu(I)’ e indirgenmesi (Albayrak vd., 2010)

Bu yöntemin avantajı hem hidrofilik hem de lipofilik maddeler için elverişli olması, pH’ın kolay ayarlanabilmesi, basit, düşük maliyetli, hızlı, pratik, seçici ve duyarlı bir antioksidan kapasite yöntemi olmasıdır (Okan vd., 2013).

Cu(I)-Nc renkli şelatı oluşturan redoks reaksiyonu nem, güneş ışığı, pH ve hava gibi değişkenlerden etkilenmemektedir. Kuersetin, gallik asit ve askorbik asit, gibi maddeler ile hızlı, aringinin, naringenin, bilirübin, serum antioksidanları, besinsel flavonoidler ile ürik asitler ile ise yavaş (30-60 dakika) reaksiyon vermektedir (Büyüktuncel, 2013).

#### 2.7.4. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)

Benzei ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemin esası; düşük pH'da  $Fe^{+3}$ 'ün TPTZ (2,4,6-tripirydyl-*s*-triazine) ile tepkimesi sonucu oluşan Fe(III)-TPTZ (ferriktripirydyltriazine) kompleksinin  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenerek Fe(II)(TPTZ)<sub>2</sub> kompleksinin oluşması esasına dayanmaktadır (Şekil 13). Asidik ortamda, antioksidanların varlığında ferriktripirydyltriazin kompleksi  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesi koyu mavi renkli olup 595 nm'de maksimum absorbands vermekte ve sonuçlar troloks eşdeğeri şeklinde verilmektedir. Bu yöntem diğer antioksidan yöntemlerine göre basit, hızlı ve ucuz olması nedeniyle tercih edilmektedir (Benzei ve Strain, 1996; Albayrak vd., 2010).



Şekil 13. Fe (III)-TPTZ kompleksinin, Fe(II)' ye indirgenmesi

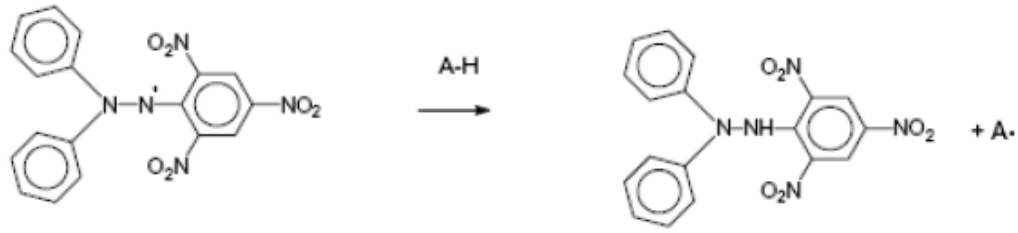
#### 2.7.5. İndirgeme Potansiyeli Metodu

Bu yöntemde Oyaizu (1986)'nın uyguladıkları prensip temel alınarak antioksidan maddenin indirgeme gücüne bağlı olarak antioksidan aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Antioksidan aktivite; potasyum ferrisiyanid  $[K_3Fe(CN)_6]$  bileşiğindeki  $Fe^{+3}$  iyonlarının antioksidan madde varlığında  $Fe^{+2}$  'ye indirgenmesi ve 700 nm'de absorbandsın ölçülmesi prensibine göre belirlenmektedir. Yüksek absorbands değeri yüksek indirgeme potansiyelini göstermekte ve sonuçlar standart madde olarak kullanılan askorbik asit eşdeğeri olarak verilmektedir (Mathew ve Abraham, 2006).

### 2.7.6.DPPH Serbest Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali koyu menekşe renkte olan ve ticari olarak satın alınabilen stabil organik azot radikalidir. Bu yöntemin esası antioksidan tarafından DPPH radikaline bir protonun aktarılması ve 517 nm'deki absorbansın azalmasının spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır (Okan vd., 2013).

DPPH çözeltisi hidrojen atomu verebilen antioksidan madde varlığında koyu menekşerengin rengin açılarak indirgenmiş yapı oluşmasına neden olur (Şekil 14). Rengin açılması absorbansta azalmaya sebep olur. Metanolik DPPH çözeltisindeki absorbanstaki azalış yüksek radikal süpürme kapasitesi demektir. DPPH derişiminin %50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarı EC<sub>50</sub> değeri olarak tanımlanır. DPPH yöntemi basit, hızlı, doğru, tekraralanabilir ve çok sayıda örnekle çalışılabilir olmasının yanında DPPH yalnızca organik çözücüde çözülebilir, sulu ortamda çözülmez ve ışıktan etkilenmektedir (Albayrak vd., 2010; Büyüktuncel., 2013).

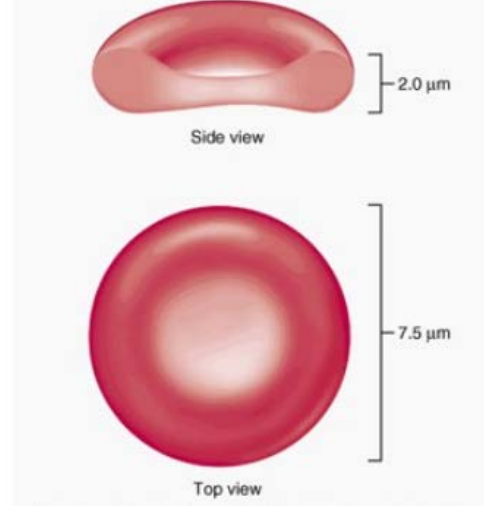


Şekil 14. DPPH radikalinin yapısı ve antioksidan (A-H) ile reaksiyonu.

### 2.8. Eritrosit Yapısı

Eritrositler 6x9 µm büyüklüğünde bikonkav diskler şeklinde olup, membranı 6nm kalınlıkta ve %49'u protein, %44'ü lipit ve %7'si karbohidrattan oluşmaktadır (Şekil 18). Eritrosit zarı ise, lipitlerden oluşmuş çift tabakalı bir zar yapısına sahip olmakla birlikte %25'i kolesterol, %60'ı fosfolipit ve az miktarda serbest yağ asitleri, kolesterol esterleri ve trigliseridlerden meydana gelmiştir (Adam ve Yiğitoğlu., 2012).

<b>Çapı</b>	<b>6.0-9.0 µm</b>
<b>Kalınlığı merkezde</b>	<b>1 µm</b>
<b>Kenarlarda</b>	<b>2.0-2.5 µm</b>
<b>Membran kalınlığı</b>	<b>6.0 nm</b>



**Şekil 15.** Eritrosit yapısı

Eritrositler çekirdek, ribozom ve mitokondrilerinin olmaması ve pek çok hücreye göre daha az içerik ve hücre içi fonksiyona sahip olmalarından dolayı basit bir hücre modeline sahip olduğu kabul edilmektedir. Son derece uzmanlaşmış ve benzersiz hücreler olan eritrositler, membranları ile aktif ve pasif taşıma, hemoglobin ile dokular ve akciğer arasında O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> taşınması ve ATP üretiminden sorumlu enzimler içermelerinden dolayı enerji metabolizmasında yer almaları şeklinde fonksiyonları gerçekleştirebildikleri için büyük öneme sahiptirler. Eritrositler organizmada en bol bulunan hücreler arasında yer almaktadırlar (Arbos vd., 2008).

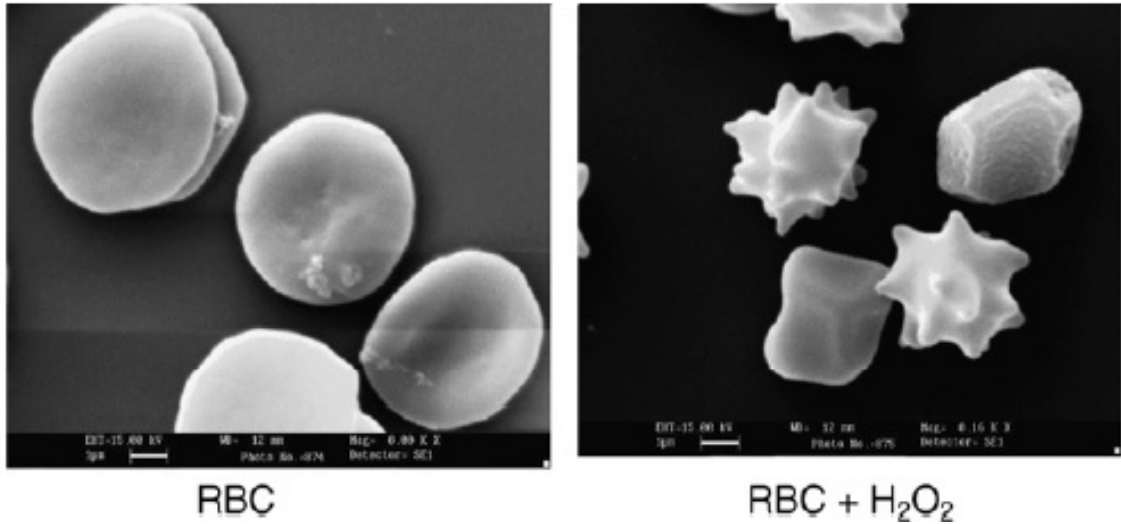
### **2.8.1. Eritrosit ve Oksidatif Stres**

Eritrositler organel içermediğinden, oksidatif stres genellikle membran lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (An vd., 2016). Eritrositlerin membranlarında yüksek oranda yer alan çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA), hemoglobinin yapısında bulunan ferröz demiri (Fe<sup>+3</sup>) ve moleküler oksijen taşınması, ROT'ların saldırısı için eritrositlerin hassas olmasına neden olmaktadır (Khalili vd., 2014). Bu yüzden eritrositler ROS'lardan etkilenen ilk hücreler arasında yer almaktadır. Oksidanlar, eritrosit membranlarında önemli değişikliklere neden olarak eritrositlerin şekillerinde anormalliğe yol açacak yüksek molekül ağırlığına sahip protein agregatları oluşturur. Ayrıca iskelet protein içeriğini azaltarak da etki gösterebilirler (Suwalskyvd., 2007). Bu etkilerin neticesinde lipid peroksidasyonu meydana gelmekte ve kararsız hidroperoksil ürünlerinden MDA, eritrositlerin membranlarındaki fosfolipid ve proteinler arasına çapraz bağlanarak hücrelerde hemolize neden olmaktadır. Hemoliz sonucunda eritrositlerin ömürleri

kısaltmaktadır. Bu sebeple % hemoliz değeri ve MDA tayini oksidatif stresi belirlemede etkili yollardan biridir.

İn vitro olarak eritrositlerde oksidatif stres oluşturulma yollarından biri de  $H_2O_2$  uygulanmasıdır.  $H_2O_2$  eritrosit membranlarından geçerek, hızlı bir şekilde hemoglobinin ile reaksiyona giren ve hidroksil radikali gibi çok reaktif olan ROT'ları üretebilen bir bileşik olarak bilinmektedir.  $H_2O_2$  ile hasar oluşturulan eritrositlerde oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilen lipid peroksidasyonu ve protein degradasyonu gerçekleşmektedir. Eritrosit çalışmalarında oksidatif hasar meydana getirmek için en fazla çalışılan  $H_2O_2$  konsantrasyonları  $100\mu M$  ve  $20mM$  olduğu ileri sürülmektedir (Balkan, 2017).

$200\mu M$   $H_2O_2$  uygulanan eritrositlerin şekillerinde ışık ve elektron mikroskobu incelemelerinde önemli ölçüde değişimler olduğu gözlemlenmiş ve eritrositlerin çoğunlukla asıl şekillerini kaybederek ekinosit (Burr cell) halini aldığı belirtilmiştir (Resim 3) (Ajila ve PrasadaRao, 2008). Snyder vd., (1985) bu şekil değişikliğinin nedeninin  $H_2O_2$ 'nin eritrosit membranındaki spektrin ve hemoglobine bağlanarak hemolize neden olup hücre yüzey bileşenlerinde, membranlardaki fosfolipit organizasyonunda ve yüzey basıncında değişime sebep olarak gerçekleştiğini belirtmişlerdir (Balkan, 2017).



**Resim 3.** Normal ve  $H_2O_2$  hasarlı eritrosit yüzeyi (Ajila ve PrasadaRao, 2008)

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Markaları

Tez çalışmaları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Kullanılan kimyasallar ve markaları Tablo 6'de verilmiştir.

**Tablo 6.** Kullanılan kimyasallar ve markaları

Kimyasal Adı	Marka
Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	HIMEDIA
Trisodyumsitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ )	HIMEDIA
Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ )	MERCK
Redükteglutasyon (GSH)	Sigma-Aldrich
Sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ )	HIMEDIA
Hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ )	MERCK
Tiyobarbitürik asit (TBA)	MERCK
Ditiyobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB)	Alfa Aesar
Amonyum Asetat	HIMEDIA
Bakır II Klorür	MERCK
Folin-Ciocalteu	Sigma-Aldrich
Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	HIMEDIA
Kuersetin	Sigma-Aldrich
Galik asit	Sigma-Aldrich
Potasyum Asetat	HIMEDIA
DPPH	Sigma-Aldrich
BHT	Sigma-Aldrich
Trolaks	Sigma-Aldrich
Sodyum asetat	HIMEDIA
Metanol	MERCK
Metafosforik asit	MERCK
Trikoloro asetik asit (TCA)	MERCK
Sodyum Azit ( $\text{NaN}_3$ )	MERCK
Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )	MERCK
Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)	HIMEDIA
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	Sigma-Aldrich
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	HIMEDIA
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	MERCK

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmalarında kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 7’de verilmiştir.

**Tablo 7.** Kullanılan cihazlar ve markaları

<b>Cihazın Adı</b>	<b>Markası</b>
Hassas terazi	Precisa XB 220 A
Santrifüj	Thermo Scientific Multifuge 3SR+
Çalkalayıcı su banyosu	Memmert WNB 14
Etüv	Memmert UF 55
Evaporatör	Heidolph Laborota 4000
Otomatik pipet	Brand, Socorex
pH Metre	Thermo Scientific Orion 3 star
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific Multiskan GO
Mikroplaka yıkayıcısı	Biotek ELX50/8
Isıtıcıli manyetik karıştırıcı	Are Velp Scientifica
Vorteks	Velpscientica
Buzdolabı	Beko BK7121-T
Derin dondurucu	Vestel FT-290

### 3.3.Kullanılan Çözeltiler

Tez çalışmalarında kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 8’da verilmiştir.



**Tablo 8.** Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

<b>Çözelti</b>	<b>Hazırlanışı</b>
<b>Toplam Fenolik Madde Miktarı İçin Kullanılan Çözeltiler</b>	
0.2 N Folin-Ciocalteu	2N'lik Folin-Ciocalteu çözeltisinden saf su kullanılarak 10 kat seyreltildi.
%7'lik (w/v) Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	7 g Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> tartılarak son hacim 100 mL olacak şekilde saf su ilave edildi.
Gallik Asit (1 mg /mL)	0.01 g gallik asit tartılarak üzerine 10 mL metanol ilavesi ile stok çözelti oluşturuldu.
<b>Toplam Flavonoid Miktarı İçin Kullanılan Çözeltiler</b>	
% 10 Aliminyum Klorür	100 mL için: 18.11g AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O tartılarak son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.
1M Potasyum Asetat	9.815g KCH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> tartılarak son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.
Kuersetin (1 mg/mL)	0.01g kuersetin tartılarak 10 mL metanol ilave edilerek stok çözelti oluturuldu.
<b>DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi İçin Kullanılan Çözeltiler</b>	
100mM DPPH Reaktifi	100 mL için: 3.94 mg DPPH reaktif tartılarak 90 mL metanolde çözülüp 100 mL'ye tamamlandı.
BHT (1 mg/mL)	0.001g BHT reaktifinden tartılarak 1mL metanol ilave edilerek stok çözelti oluşturuldu. Hazırlanan stok çözelti (200-100-50-25-12.5-6.25µg/mL) konsantrasyonlar olacak şekilde metanolle seyreltildi.
<b>CUPRAC Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler</b>	
1 M NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	3.8g NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> tartılarak son hacim 50 mL saf su ile tamamlandı (pH:7'ye ayarlandı).
10 mM CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	85.24 mg CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O tartılarak son hacim 50 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.
7.5mMNeokuproin Çözeltisi	78mg neokuproin bir miktar metanolde çözüldükten sonra son hacim 50 mL'ye metanol ile tamamlandı.
Trolaks (2 mg/mL)	0.002 gr Troloks tartılarak 1mL metanolde çözülerek stok çözelti hazırlandı. Stok çözelti metanolle seyreltilerek (2.0-1.0-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.0312 mg/mL) konsantrasyonları hazırlandı
<b>FRAP Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler</b>	
100mMHCl	25 ml saf suyun üzerine %37'lik HCl'den 205µL ilave edildi.

**Tablo 8.Devam**

10 mM TPTZ	46.8 mg TPTZ 6mL 100 mM'lıkHCl içinde çözülerek üzerine 9 mL metanol ilave edildi.
20 mM FeCl <sub>3</sub>	48.6 mg FeCl <sub>3</sub> 6 mL saf su ile çözülerek üzerine 9 mL metanol ilave edildi.
Asetat Tamponu (300mM, pH 3,6)	2.325gr NaCH <sub>3</sub> COO.3H <sub>2</sub> O üzerine 12 mL glasiyel asetik asit eklenerek 750 mL'ye saf su ile tamamlandı.
FRAP Reaktifi	300 mMpH 3.6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl <sub>3</sub> (10:1:1) oranında karıştırılarak günlük taze hazırlandı.
Troloks (1 mg/mL)	0.001gr Troloks tartılarak 1mL metanolde çözülerek stok çözelti oluşturuldu. Stok çözelti konsantrasyonları (0.5-0.25-0.125-0.0625-0.0312 mg/mL) olacak şekilde metanolle seyreltildi.

**İndirgeme Gücü (Redüktif Potansiyel) Metod**

% 1 Potasyum ferrisiyanür çözeltisi	1.0 gr K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] tartılıp son hacim 100mL' olacak şekilde su ile tamamlandı.
% 0.1 FeCl <sub>3</sub> Çözeltisi	0.1 gr FeCl <sub>3</sub> tartılıp son hacim 100mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.
0.2 M Fosfat Tamponu (pH:6.6)	7.098 gr Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> tartılıp son hacim 250mL'ye saf su ile tamamlandı.
% 10 TCA Çözeltisi	10 gr TCA tartılıp son hacim 100mL'ye saf su ile tamamlandı.
Askorbik asit (1 mg/mL)	0.001gr Troloks tartılarak 1mL metanolde çözülerek stok çözelti oluşturuldu. Stok çözelti konsantrasyonları (0.5-0.25-0.125-0.0625-0.0312-0.0156mg/mL) olacak şekilde metanolle seyreltildi.

**Eritrosit Paketinin Hazırlanmasında Kullanılan Çözeltiler**

% 0.9'luk NaCl	9 gr NaCl tartılıpbir miktar saf suda çözülerek 1 L ye tamamlandı.
----------------	--

**MDA Miktar Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler**

600mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.309 mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alınarak hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.
0.02 M NaN <sub>3</sub> Çözeltisi	0.13g NaN <sub>3</sub> tartılıp hacmi PBS ile 50 mL'ye tamamlandı.

**Tablo 8. Devam**

%28 TCA Çözeltisi	28 g TCA son hacim 100 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanarak hazırlandı.
% 0.9'luk NaCl	9 g NaCl tartılıp son hacim 1 L olacak şekilde saf suda çözülerek hazırlandı
PBS Çözeltisi (pH:7.4)	0.11968 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ve 0.5295 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> tartılıp 1000mL %0.9'luk NaCl çözeltisinde çözülerek pH 7.4 ayarlanarak hazırlandı.
TBA Çözeltisi	0.1 gr NaOH ve 0.1 gr TBA tartılıp son hacmi 10 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

### **3.4. Fındık Zurufunun Toplanması ve Öğütülmesi**

*Corylus avellana* L. tipi Türk fındığına ait fındık zurufu 2018 yılı ağustos ayında Giresun ili Bulancak merkez köyünden toplanmıştır. Fındık zuruf örneği 37 °C'de etüvide kurutuldu. Kurutulan numuneler öğütücüde toz haline getirildi. Ekstraksiyon (özütleme) işlemlerinde kullanılması için -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

### **3.5. Ekstraktların Hazırlanışı**

Toz halindeki fındık zurufu numunesinden toplamda 10 gr tartılarak üzerine 200 mL metanol (5'er gr tartılarak 100 mL metanol) ilave edilerek çalkalayıcı inkübatör (160 ppm'de) 16 saat inkübasyona bırakıldı. Bu işlemden sonra süzüntüler birleştirilerek evaporatör de metanol uçuruldu. Elde edilen özütlerin kuru gram ağırlıkları 100 mg/mL olacak şekilde DMSO'da çözülerek -20 °C'de saklandı.

### **3.6. Fındık Zurufunun Antioksidan Aktivite Çalışmaları**

#### **3.6.1. Toplam Polifenolik Madde Miktarının(TPFMM) Belirlenmesi**

Toplam fenolik madde miktarı, alkali ortamda metanolde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile renkli (mor-menekşe) kompleksler meydana getirmesi ve bu mor-menekşe rengindeki kompleksin maksimum absorpsiyonunu 700 nm' de vermesi esasına dayanarak gerçekleştirildi (Silinkard ve Singleton, 1977).

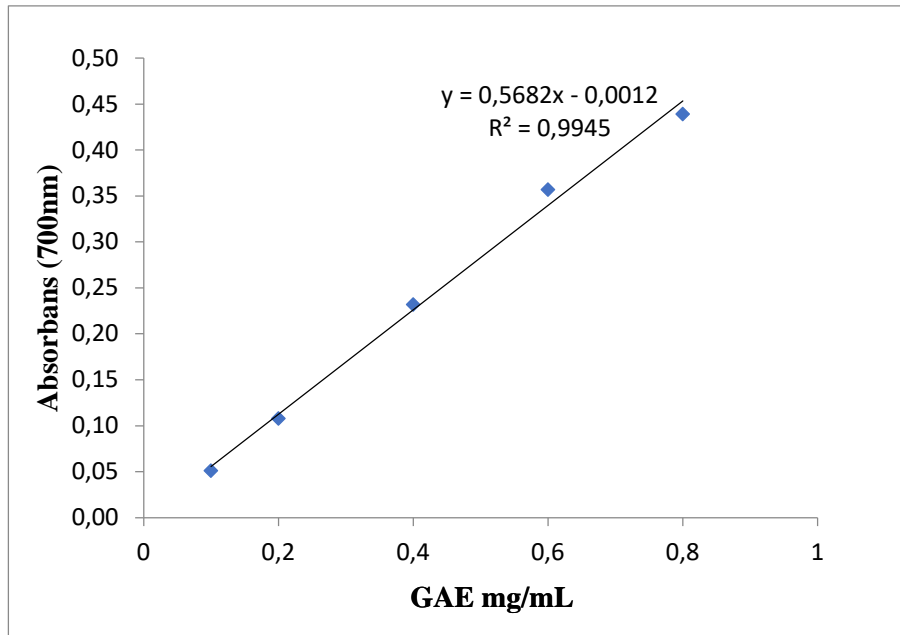
Çalışmada, standart madde olarak gallik asidin 5 farklı konsantrasyonda (0.8–0.6–0.4–0.2–0.1–0.05mg/mL) çözeltileri hazırlanarak kullanıldı. Her bir numune için ölçümler üç tekrar şeklinde çalışılarak Tablo 9'daki pipetlemeler yapıldı. Ardından tüplerin hepsi vorteksenerek oda ısısında 2 saat inkübasyon süresinin geçmesi beklendi. İnkübasyon

süresinin sonunda numunelerin 700 nm dalga boyunda spektrofotometre yardımı ile absorbansları tayin edildi.

**Tablo 9.** Toplam fenolik madde miktarı tayini pipetleme miktarları

	Kör (mL)	Numune (mL)	Standart (mL)
Numune	-	0.05	-
Standart	-	-	0.05
Deiyonize su	2.55	2.50	2.50
0.2 N Folin Reaktifi	0.25	0.25	0.25
Tüpler vortekslendi ve 3 dakika sonra			
%7 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.75	0.75	0.75

Farklı konsantrasyonlar daki gallik asit çözeltilerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standarda ait grafik Şekil 19’de verildi. Bu grafik yardımıyla Fındık zuruf özütünün TPFMM mg GAE/g özüt olarak hesaplandı.



**Şekil 16.** Gallik asit standart grafiği

### 3.6.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı (TFMM) Tayini

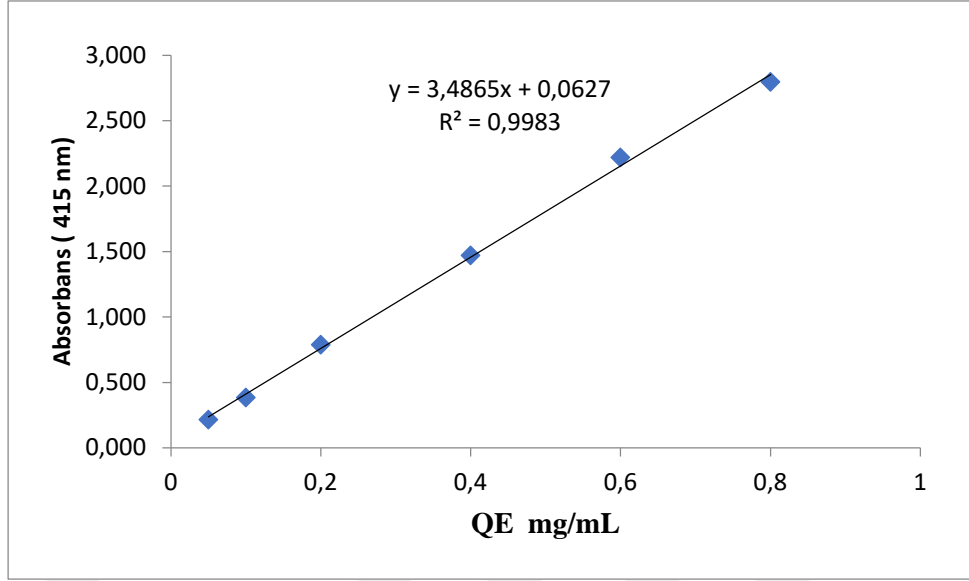
TFMM, alüminyum (III) klorür çözeltisi ve potasyum asetat çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine metanollü flavonoid çözeltisinin ilave edilmesi ve 30 dakika sonra referansa karşı 415 nm’de absorbans değeri ölçülmesi esasına dayanan bu yöntem baz alınarak spektrofotometrik olarak belirlendi (Kalita vd, 2013).

Çalışmada, standart madde olarak kuersetinin günlük taze olarak stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltilerden metanol ile seyreltmeler yapılarak 6 farklı konsantrasyonlarda (1–0.8–0.6–0.4–0.2–0.1 mg/mL) çözeltiler hazırlandı. Her bir numune için ölçümler üç tekrar şeklinde Tablo 10’da belirtildiği şekilde pipetleme yapıldı. Ardından tüplerin hepsi vorteksenerek oda ısısında 30 dakika inkübasyon süresinin geçmesi beklendi. İnkübasyondan sonra 415 nm dalga boyunda numunelerin absorbansları spektrofotometre ile tayin edildi.

**Tablo 10.** Toplam flavonoid tayini pipetleme miktarları

	<b>Kör (mL)</b>	<b>Numune (mL)</b>	<b>Standart (mL)</b>
<b>Numune</b>	-	0.25	-
<b>Standart</b>	-	-	0.25
<b>Deiyonize su</b>	2.50	2.25	2.25
<b>%10 AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.05	0.05	0.05
<b>1 M Potasyum Asetat</b>	0.05	0.05	0.05

Farklı konsantrasyonlar daki kuersetin çözeltilerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standarda ait Şekil 17’de çizilen grafik elde edildi. Bu grafik yardımıyla fındık zuruf özütünün toplam flavonoid miktarı mg kuersetin/g özüt olarak hesaplandı.



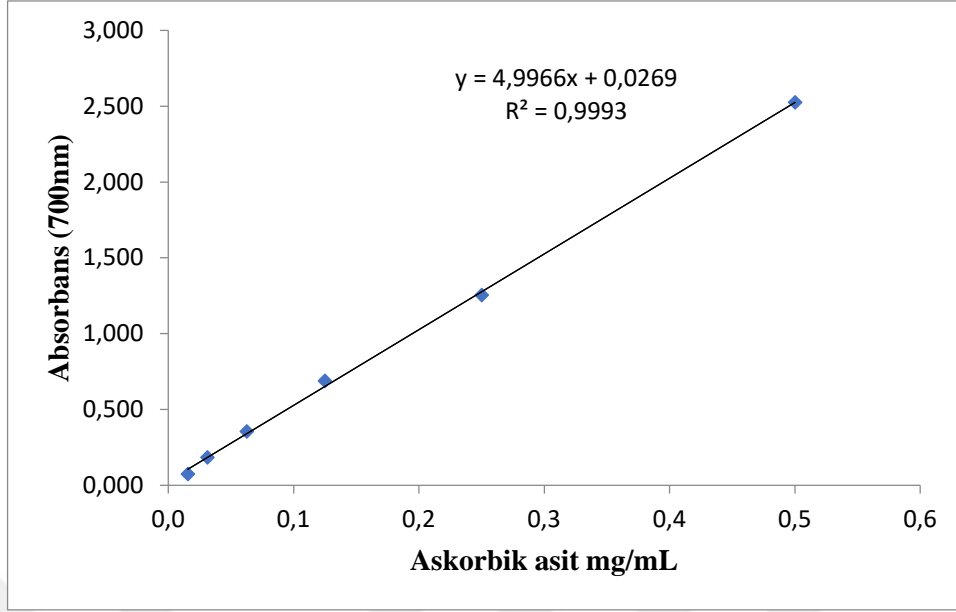
Şekil 17. Kuersetin standart grafiği

### 3.6.3. İndirgeme Potansiyeli Metodu(İP)

Oyaizu'nun 1986 yılında uyguladıkları yöntem temel alınarak indirgeme gücü belirlendi (Mathew ve Abraham, 2006).

Askorbik asitin günlük ve taze bir şekilde 6 farklı konsantrasyonlarda (0.5– 0.25 – 0.125 – 0.0625 – 0.0312 – 0.0156 mg/mL) metanol ile seyreltilerek çözeltileri hazırlandı. Numune/standart çözeltilerinin 100 µL'si üzerine 250 µL 0.2 M fosfat tampon çözeltisi (pH: 6.6) ve 250 µL % 1 w/v potasyumferrisiyanid [ $K_3Fe(CN)_6$ ] eklenip karıştırılarak vortekslenildi. 50 °C'de 20 dk çalkalayıcı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda reaksiyon karışımına 250 µL TCA eklenerek 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Bu çözeltinin üst kısmından 250 µL alınarak 250 µL distile su ve 500 µL %0.1  $FeCl_3$  pipetlendikten sonra 700 nm'de absorbans değeri belirlendi. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir.

Standart madde olarak kullanılan askorbik asidin farklı konsantrasyonlar daki çözeltilerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak Şekil 18'deki grafik oluşturuldu. Bu grafik yardımıyla fındık zurufunun indirgenme potansiyeli mg askorbik asit/g özüt olarak hesaplandı.



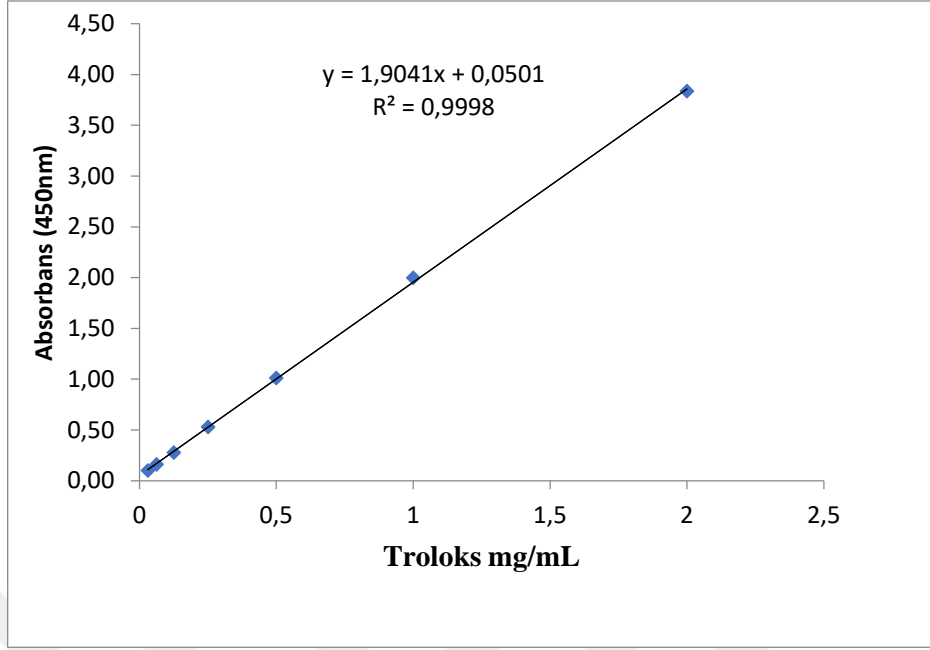
**Şekil 18.** Askorbik asit standart grafiği

#### 3.6.4. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

CUPRAC metodunda 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin'nin Cu (II) ile oluşturmuş olduğu Cu(II)-Neokuproin kompleksinin, antioksidan madde bulunması durumunda meydana gelen Cu(I)-neokuproin şelatının 450 nm'de maksimum absorbans vermesi esasından faydalanılarak tayin yapıldı (Apak vd., 2004).

Troloks'ın 7 ayrı konsantrasyonlarda (2–1–0.5–0.25–0.125–0.0625–0.0312 mg/mL) günlük ve taze metanolük çözeltisi hazırlanıp kullanıldı. Numuneler 5 mg/mL konsantrasyonların da olacak şekilde hazırlandı. 100 µL NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> ve 100 µL CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O üstüne numune/standart çözeltilerinden 50'şer µL eklendi. Daha sonra numune/standart çözeltilerine 100 µL Nc reaktifi eklenirken köre numune/standart seyreltme çözücüsü olarak kullanılan 50 µL metanol eklendi. Tüplerin hepsi vortekslelendikten sonra oda ısısında ve karanlıkta 30 dk bekletildi. Her örnek üç tekrar şeklinde çalışıldı. Süre sonunda absorbanslar spektrofotometre yardımıyla 450 nm' de tayin edildi.

Numunelerin antioksidan kapasitesi standart madde olarak kullanılan Troloks ile Şekil 19'da karşılaştırılarak gram özüt troloks eşdeğeri şeklinde (TECA/ g özüt) ifade edildi.



Şekil 19. Troloks standart grafiği

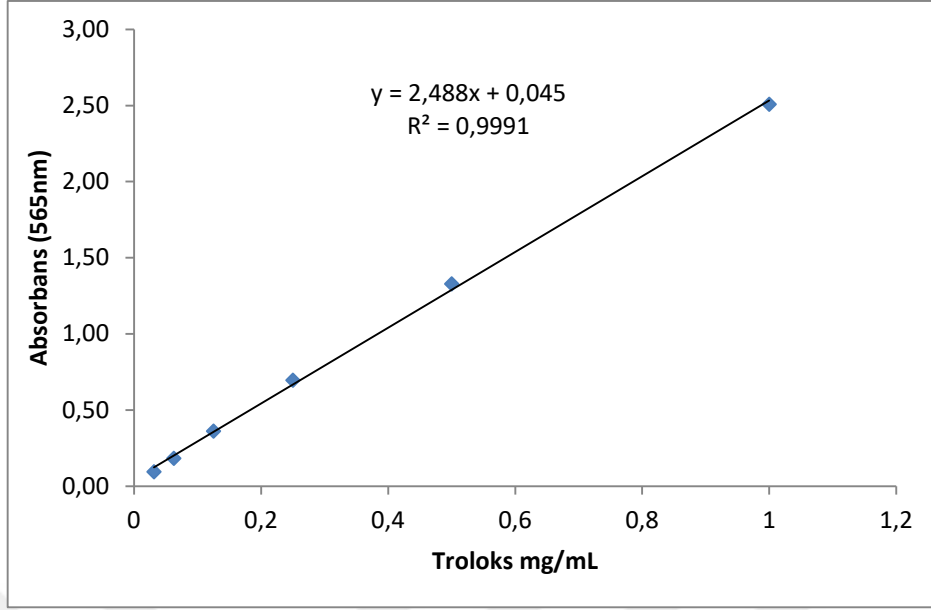
### 3.6.5. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

FRAP tayini; metodunda Fe(III) -TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridil)-S-triazin) birleşiminin antioksidanların varlığında mavi renkli olan Fe(II)-TPTZ birleşimine indirgenmesi ve bu birleşimde 595 nm' de maksimum absorbans vermesi metodu esas alınarak tayin yapıldı (Benzei ve Strain, 1999).

Toloks'ın değişik konsantrasyonlarda (1–0.5–0.25–0.125–0.0625–0.03125 mg/mL) çözeltileri metanolla hazırlanarak kullanıldı. Fındık zurufu özütleri 5 mg/mL konsantrasyonun da olacak şekilde hazırlandı. FRAP reaktifi kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlandı. Kör olarak standart/ numune çözücüleri olan metanol kullanıldı. Standart/numune çözeltilerinden 50'şer µL alınıp üzerine 1.5 mL FRAP reaktifi pipetlendi ve tüm tüpler vortekslendi. Oda ısısında ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde örneklerin absorbansları 565 nm'de okuma yapılarak belirlendi.

Fındık Zurufu özütlerinin FRAP değeri Şekil 20'deki troloks (standart madde) grafiği yardımıyla gram özüt troloks eşdeğeri (mg TEFA/g özüt) olarak ifade edildi.





Şekil 20. Troloks standart grafiği

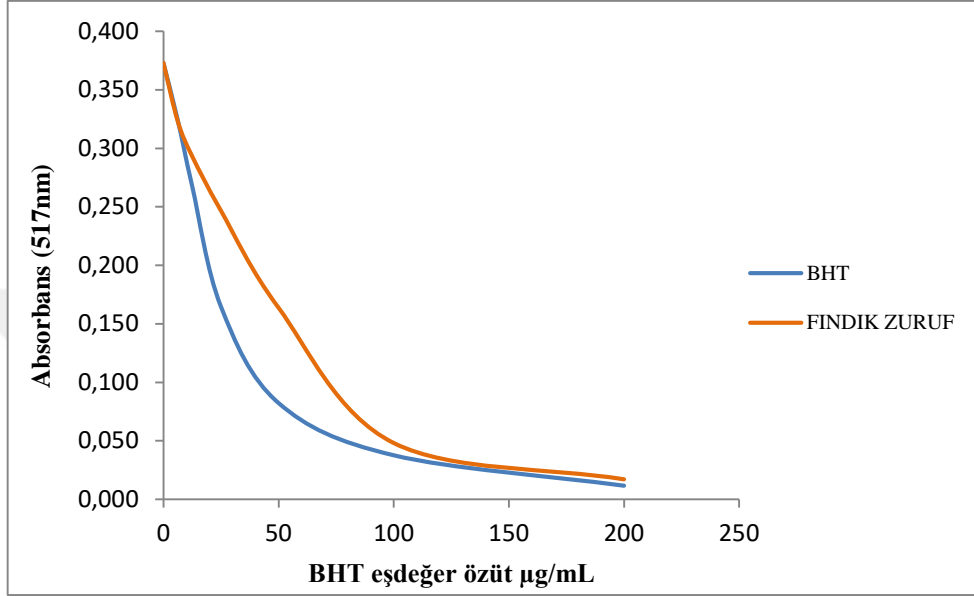
### 3.6.5. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivite Tayini

DPPH radikali ticari olarak satın alınabilen bir radikaldir. Bu çalışmada fındık zuruf özütleri ile bu radikalin günlük ve taze olarak hazırlanan 100 µM'lık metanolik çözeltisi kullanıldı. Coumestrol yöntemi kullanılarak antioksidan birleşiklerin varlığında mor menekşe renkli olan DPPH radikalının renginin açılması ve 517 nm dalga boyunda maksimum absorbansındaki azalışın tespit edilerek radikal temizleme aktivitesi incelendi (Cuendet vd., 1997).

İlk olarak numunenin ve standardın çalışma için uygun konsantrasyonları belirlendi. Numune ve standart konsantrasyonu belirlemek için, hazırlanan numune ve standart çözeltisi üzerine DPPH çözeltisinden 1:1 oranında pipetlenerek 30 dk beklendi. Süre sonunda radikalin mor menekşe renginde değişme yoksa konsantrasyonun numune için uygun olduğu rengin değişmesi durumunda numune konsantrasyonu seyreltilerek aynı işleme devam edildi.

Çalışmada standart madde olarak BHT'nin 6 farklı konsantrasyonlarında (200–100–50–25–12.5–6.25 µg/mL) çözeltileri ve eşdeğer olarak numunenin konsantrasyonları metanol ile hazırlanarak kullanıldı. Pipetlemeler mikropipet üzerinde yapıldı. 150 µL DPPH üzerine eşit hacimde numune çözeltisi eklenip çalkalanarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 40 dakika inkübasyon için bekletildi. Her bir numune/standart konsantrasyonu için birer kör [(numune/standart + DPPH çözücüsü(metanol))] ve her bir çözücü (metanol)

için de [kontrol tüpleri (DPPH + numune çözücüsü)] üç tekrar çalışıldı. İnkübasyon sonunda 517 nm'de absorbanslar spektrofotometre ile belirlendi. Absorbanslar üç tekrarın ortalaması alınarak ve kör değerleri bu ortalamadan çıkarılarak hesaplandı (Şekil 21). IC<sub>50</sub> değeri konsantrasyon/absorbans grafiği oluşturularak hesaplandı.



Şekil 21. BHT ve Fındık Zuruf DPPH grafiği

### 3.7. Lipit Peroksidasyonunu Engelleme Kapasitesinin Belirlenmesi

#### 3.7.1. Eritrosit paketinin hazırlanması

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi kan Laboratuvarı'ndan alınan tam kanlardan havuz oluşturuldu ve 600 g'de 10 dk. oda sıcaklığında santrifüjlenerek plazma kısmı atıldı. Daha sonra eritrosit paketi hacminin 2-3 katı olacak şekilde %0.9'luk NaCl eklenerek 4.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve trombosit ve lökosit fazları uzaklaştırıldı. Bu yıkma işlemi 2-3 kez tekrarlandı ve hastanenin laboratuvarın da eritrositlerin hemoglobin değeri ölçüldü.

#### 3.7.2. Hücre süspansiyonlarının hazırlanması

Stock ve Dormandy (1971) metodundan yararlanılarak reaksiyon çalışma ortamı hazırlandı. Hazırlanan eritrosit paketi RTEÜ Eğitim Araştırma Hastanesinin Klinik Biyokimya Laboratuvarındaki hemogram cihazında ölçülen hemoglobin değerinin son



absorbansı 532 ve 600 nm’de spektrofotometre ile çift okuma yapılarak MDA miktarı aşağıdaki ‘‘Eşitlik 1’’ formülü kullanılarak hesaplandı (Stocks ve Dormandy, 1971).

$$[\text{MDA}]=(A_{532}-A_{600})\cdot 900=\text{nmol MDA/g Hb (Eşitlik 1)}$$

### 3.8. İstatistik Analiz

Çalışmamızdaki sonuçların SPSS programı kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. Tek Yönlü Varyasyon Analizi (One-way ANOVA) çalışma gruplarına ait ilgili parametrelerin anlamlılıkları ile belirlendi. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verilerek  $P<0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin TPFMM İçeriği

Fındık Zurufu bitkisi özütlerinin TPFMM, standart madde olarak kullanılan gallik asit standart grafiği kullanılarak belirlenerek fenolik madde miktarı g özüt başına mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g özüt) olarak verilmiştir. Fındık zurufunun TPFMM **128 ± 3 mg GAE/g özüt** olarak bulundu.

### 4.2. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin TFMM İçeriği

Fındık Zurufu bitkisi özütlerinin TFMM, standart madde olarak kullanılan kuersetin grafiği kullanılarak belirlenmiştir. Flavonoid madde miktarı g özüt başına mg kuersetin eşdeğeri (mg KE/g özüt) olarak belirlendi ve sonuç **5.8 ± 0.2 mg KE/g özüt** olarak bulundu.

### 4.3. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin İP Analizi

Fındık Zurufu bitkisi özütlerinin indirgenme potansiyeli, askorbik asit (standart madde) grafiği kullanılarak g özüt başına mg askorbik asit eşdeğeri (mg A.A/g özüt) **57 ± 0.8** olarak bulunmuştur.

### 4.4. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin CUPRAC Analizi

Fındık Zurufu bitkisi özütlerinin CUPRAC aktivitesi, standart madde olarak kullanılan trolaks standart grafiği kullanılarak belirlenmiştir. CUPRAC değerleri g özüt başına mg trolaks eşdeğeri (mg TECA/g özüt) **285 ± 9** olarak bulundu.

### 4.5. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin FRAP Analizi

Fındık Zurufu bitkisi özütlerinin FRAP aktivitesi, standart madde olarak kullanılan trolaks standart grafiği kullanılarak belirlenmiştir. FRAP değerleri g özüt başına mg trolaks eşdeğeri (mg TEFA /g özüt) **173 ± 2.4** bulundu.

Antioksidan aktivite testlerinin sonuçları Tablo 11'de toplu olarak verilmiştir.

**Tablo 11.** Fındık zurufunun antioksidan aktivite test sonuçları

<b>Antioksidan Test</b>	<b>Ortalama Değer (n:8) (<math>\bar{x} \pm SD</math>)</b>
<b>TPFMM (mg GAE/g özüt)</b>	128 $\pm$ 3
<b>TFMM (mg KE/g özüt)</b>	5.8 $\pm$ 0.2
<b>İP (mg A.A/g özüt)</b>	57 $\pm$ 0.8
<b>CUPRAC (mg TECA/g özüt)</b>	285 $\pm$ 9
<b>FRAP (mg TEFA /g özüt)</b>	173 $\pm$ 2.4

#### **4.6. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi**

Fındık zurufu bitkisi özütlerinin DPPH radikal temizleme aktivitesi tayini sonucunda elde edilen veriler, BHT (standart madde) ile karşılaştırılmıştır. Standart ve Fındık zurufuna ait hesaplanan IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 12’de verilmiştir.

**Tablo 12.** Fındık Zuruf bitkisine ait özütün DPPH radikal temizleme aktivitesi

<b>Numune (n=6)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mg /mL)</b>
<b>Fındık Zurufu</b>	0.060 $\pm$ 0.002
<b>BHT</b>	0.059 $\pm$ 0.004

#### **4.7. Fındık Zuruf Bitkisine Ait Özütlerin Lipit Peroksidasyonunu Engelleme Kapasitesi**

Fındık zurufu’nun lipit peroksidasyonunu engelleme kapasitesi, lipit peroksidasyonunu son ürünü olan MDA analizi yapılarak tespit edildi. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile eritrositlerde oksidatif stres oluşturuldu. Bitki özütünün meydana gelen bu oksidatif stresi ne kadar engelleyebilirse o kadar yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir. MDA tayini yapılırken standart olarak Cimin üzümü çekirdeğinden

(bitkisel standart) elde edilen özüt ve ticari olarak satın alınan BHT (sentetik standart) kullanıldı. Ayrıca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilen ve edilmeyen eritrositlerde de MDA seviyeleri belirlendi. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen MDA seviyeleri Tablo 13’de verilmiştir.

**Tablo 13.** Fındık Zurufu özütlerinin MDA düzeyleri

Numune (n=8)	MDA (mg / g Hb) ( $\bar{x} \pm SD$ )
Eritrosit	18 ± 2
Eritrosit + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	824 ± 79
Eritrosit + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Fındık Zurufu (1.25 g/mL)	344± 17
Eritrosit + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Üzüm Çekirdeği (1.25 mg/mL)	247 ± 29
Eritrosit + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + BHT (0.625 mg/mL)	109 ± 10

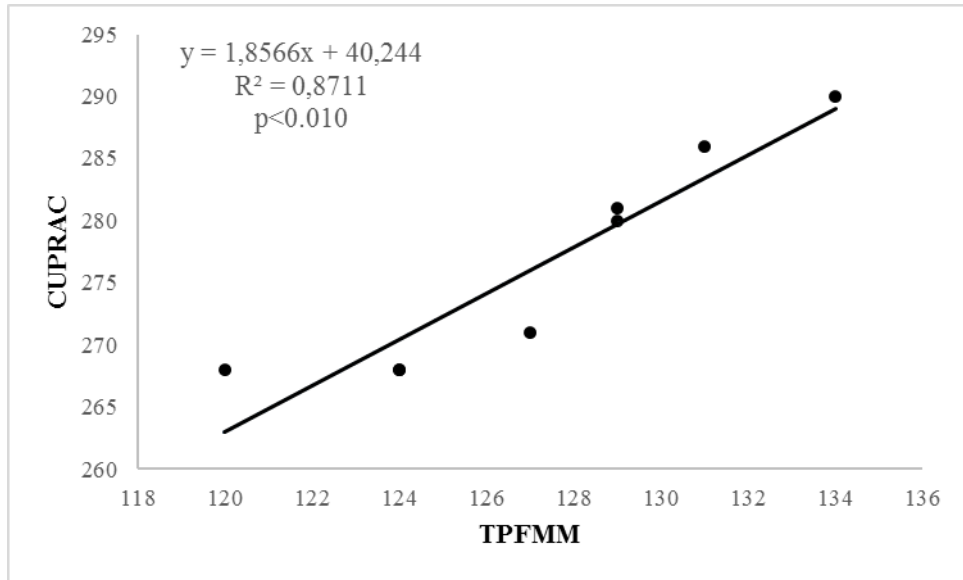
Yapılan istatistik analiz sonucunda bütün çalışma grupları arasında p=0.000 düzeyinde anlamlı farklılık bulunmuştur. Çalışmamızda eritrosit süspansiyonuna H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesi sonucunda lipit oksidasyonunun gerçekleştiği, eritrosit ile eritrosit + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grupları arasında MDA düzeyinin farklı olması ile ortaya konmuştur. Eritrosit grubunun MDA düzeyinin diğer çalışma gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiş. Benzer şekilde eritrosit + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubunun MDA seviyeleri diğer çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Fındık zuruf özütünün bulunduğu çalışma ortamı ile standartların bulunduğu çalışma ortamının MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, bitki özütünün MDA seviyesi her iki standartından yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak sadece eritrosit + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ortam ile karşılaştırıldığında ise MDA düzeyini yaklaşık %50 oranında azalttığı belirlenmiştir.

Fındık zurufunun TPFMM ve TFMM değerlerinin CUPRAC, FRAP ve İP aktiviteleri arasındaki korelasyon analizi n=8 değer baz alınarak karşılaştırılarak Tablo 14’de verilmiştir.

**Tablo 14.** Antioksidan aktiviteler arasındaki korelasyon analizi (n= 8)

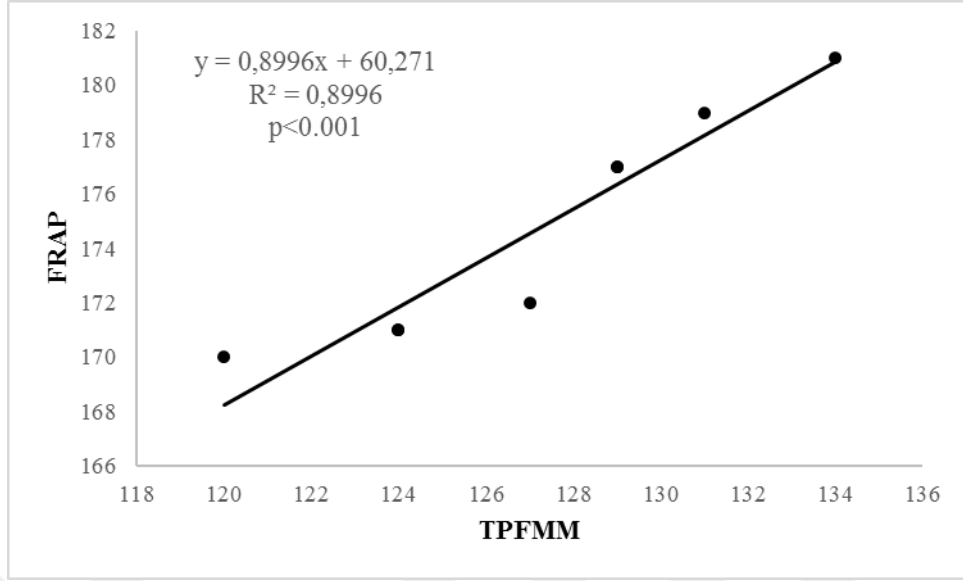
	CUPRAC	FRAP	İP
TPFMM	r = 0.927 p = <b>0.001</b>	r = 0.944 p = <b>0.000</b>	r = 0.949 p = <b>0.000</b>
TFMM	r = -0.706 p = 0.050	r = -0.708 p = 0.049	r = -0.409 p = 0.315

Yapılan korelasyon analizi sonucunda fındık zurufunun TPFMM değerleri ile CUPRAC, FRAP ve İP arasında çok yüksek derecede pozitif yönde korelasyon görülmüştür (Şekil 23, 24, 25). TFMM değeri ile CUPRAC ve FRAP değerleri arasında ise negatif yönde korelasyon belirlenmiştir ancak bu ilişki İP değeri ile ise anlamlı düzeyde görülmemiştir (Şekil 26, 27, 28).

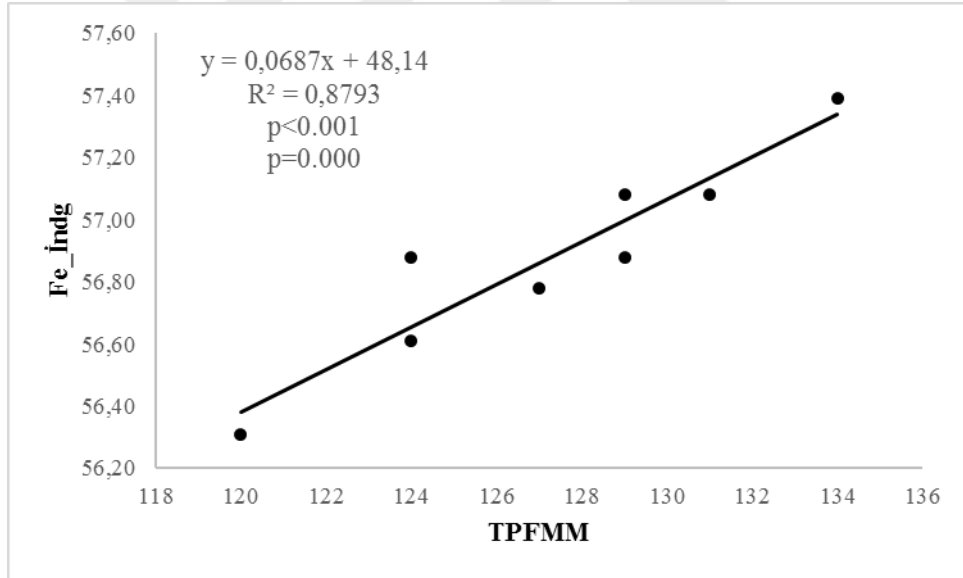


**Şekil 23.** TPFMM ve CUPRAC aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği

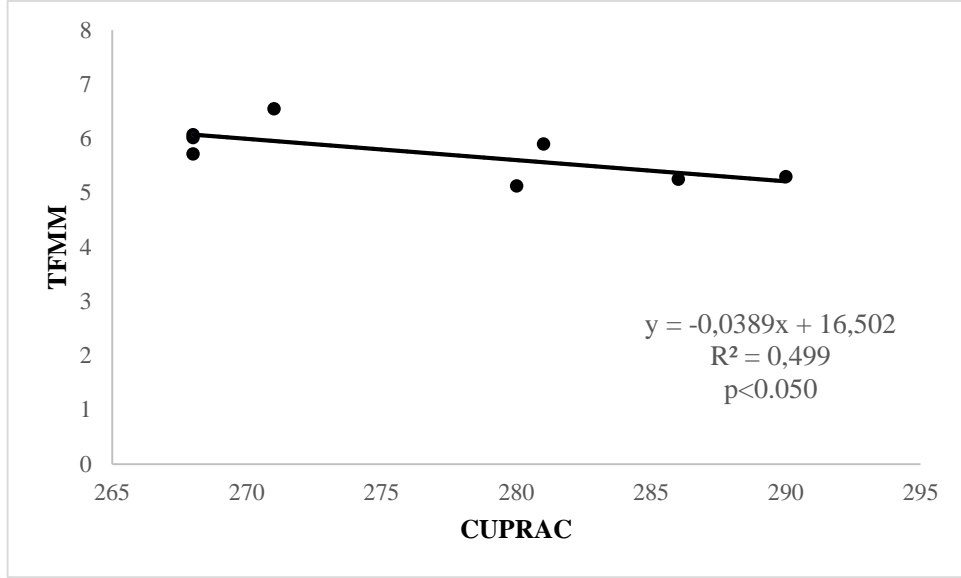




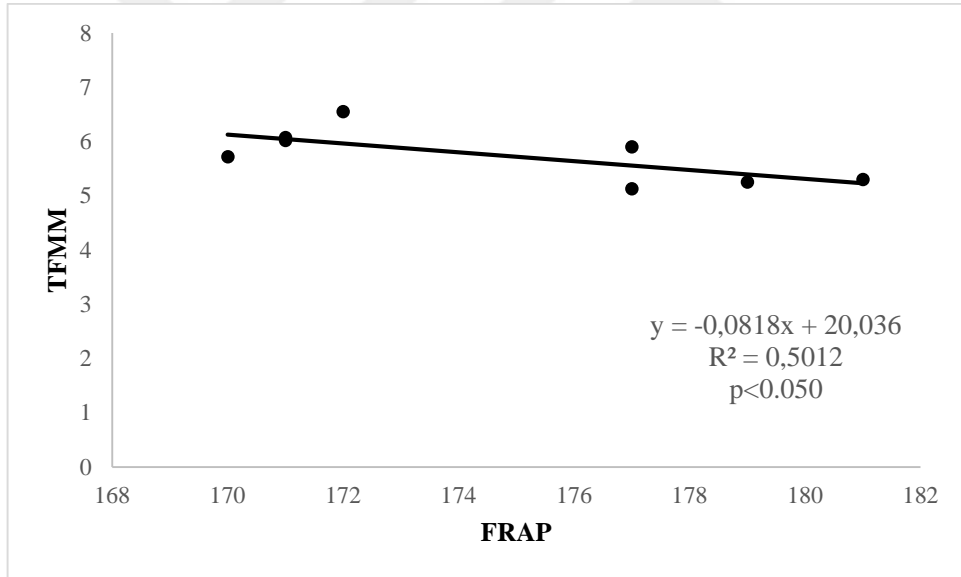
Şekil 24. TPFMM ve FRAP aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği



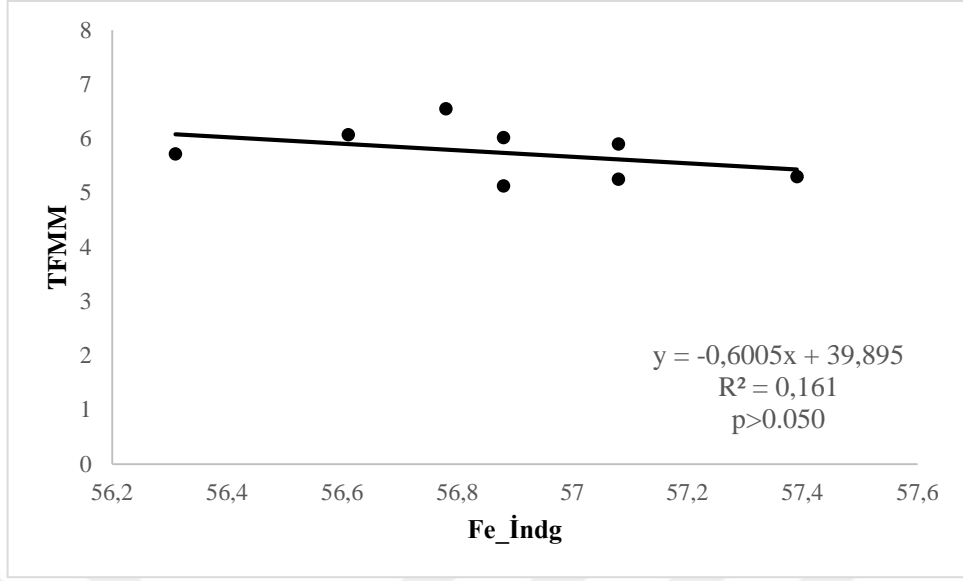
Şekil 25. TPFMM ve İP aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 26. TFMM ve CUPRAC aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 27. TFMM ve FRAP aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 28. TFMM ve İP aktivitesi arasındaki korelasyon grafiği

## 5. TARTIŞMA

İnsanlığın varoluşundan günümüze kadar bitkilerden başta besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek amacıyla faydalanılmıştır. Türkiye; coğrafi konumu, çeşitli iklimleri, geniş yüzölçümü ve tarımsal potansiyeli sayesinde pek çok bitki çeşidine ev sahipliği yapmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Özellikle tıbbi ve aromatik bitkiler hastalıkların önlenmesi, iyileştirilmesi ve sağlıklı yaşamın devamı için ilaç olarak geleneksel ve modern tıpta kendine yer bulmaktadır. (Temel ve ark., 2018). Anadolu'da yaygın olarak bulunan bitki kaynaklı halk ilaçları, uzun tecrübeler neticesinde günümüze kadar gelmiştir. Bitkilerden elde edilen pek çok ilaçta tıpta kullanılmaktadır. Günümüzde, sentetik antioksidanların güvenilir olarak kullanılması ile ilgili artan endişelerden dolayı bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlar giderek artan ilgi görmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusun %80'inin (yaklaşık 4 milyar insanın) sağlık sorunlarını ilk etapta bitkisel preparatlarla gidermeye çalıştıklarını bildirmektedir. Ayrıca, reçeteli ilaçların yaklaşık %25'ini geliştirmiş ülkelerde bitkisel kökenli ilaçlar (vimblastin, kinin, aspirin vb) oluşturmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Serbest radikallerin üretimindeki dengesizlik sonucu meydana gelen oksidatif stres, yaşlanma, kanser, diyabet, ateroskleroz, iskemik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar (Alzheimer ve Parkinson gibi), amfizem, hipertansiyon gibi birçok hastalığa neden olmaktadır (Lobo ve ark., 2010). Serbest radikallerin meydana getirdiği bu hastalıkların oluşumunu engellemek için antioksidan sistemler devreye girmekte, yetersiz kaldığında ise bitkisel antioksidanların alınması gerekmektedir. Doğal antioksidan özelliklerini bitkilerin ikincil metabolitler olarak ürettiği fenolik bileşikler oluşturmaktadır (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).

Tez kapsamında fındık zurufu atığının antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla ilk olarak bu atığın metanollük özütleri hazırlanmıştır. Bu özütlerin TPFMM, TFMM, DPPH radikal temizleme aktivitesi, indirgenme kapasitesi tayini, FRAP ve CUPRAC tayinlerinin yanında özütle muamele edilmiş eritrositlerde lipidperoksidasyon son ve kararlı ürünlerinden olan MDA düzeyleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada fındık zurufu atığının TPFMM düzeyleri ölçülmüş ve standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Bizim TPFMM değerimiz ( $128 \pm 3$  mg GAE/g özüt) Shahidi vd. (2007) yapmış olduğu yağı uzaklaştırılmış fındık zurufu atığının %80 etanollü özütünü kullandığı çalışmada elde ettikleri değerle benzer bulunmuştur (127 mg kateşin/g özüt).

Diğer taraftan ise Alaşalvar vd. (2006) fındık zurufunda aynı metodla yaptığı çalışmada %80 etanollü özütünde 156 mg kateşin/g özüt, %80 asetonlu özütünde 201 mg kateşin/g özüt ile bizden biraz daha yüksek değer bulmuşlardır. Yine Sürek ve Büyükkileci (2018) yapmış olduğu çalışmada ise fındık zurufunun %80 metanol ve aseton özütünde 12 ve 17 mg GAE/g kuru fındık atığı değerlerini tespit etmişlerdir. Bu bulguların bizim sonuçlarımızdan farklı olma nedeninin ekstraksiyonda kullanılan çözücülerden ya da birimlendirme farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Esposito vd. (2017) ise fındikkabuğu metanollü özütünde bu değeri 194 mg GAE/g özüt olarak Shahidi vd. (2007) ise %80 etanollü özütünde 214 mg Kateşin/g bulmuştur. Bu verilere göre fındığın sert kabuğunda TPFMM içeriğinin fındık zurufundan daha yüksek olduğu görülmektedir. Fındık zurufunun antioksidan kapasitesini araştıran çalışmalar son derece kısıtlı olduğu yapılan literatür taramalarında ortaya çıkmıştır. Bu nedenle benzer tarımsal ürün atıklarının biyolojik etkisini ortaya koyan araştırmalar da dikkate alınmış ve çalışma sonuçlarımızla karşılaştırma yoluna gidilmiştir. Fernandez vd. (2013) ceviz yeşil kabuğu %100, %50 metanol ve etanollü özütlerinde sırasıyla 66, 82 ve 52, 84 mg GAE/g özüt, Rahimipناه vd. (2010) aynı örneğin metanollü özütü 34 mg GAE/g kuru ağırlık, Doğan vd. (2014) yine bu örneğin %82 metanollü özütü ve antep fıstığı kabuğu ile badem kabuğu metanollü özütlerini 73, 32, 18 mg GAE/g özüt ile Meng vd. (2020) fıstık kabuğu %80 metanollü özütü 3.62 mg GAE/g özüt, Zoral ve Turgay (2014) ise Antep fıstığı ve ceviz kabuğunun metanollü özütündeki TPFMM değerinin 15 ve 6,6 mg GAE/g özüt olduğunu belirtmişlerdir. Bu değerlere bakıldığında fındık zurufuna göre daha düşük TPFMM içeriklerine sahip oldukları görülmektedir.

Çalışmamızda TFMM değerleri standart olarak kullanılan kuersetin ile ( $5.8 \pm 0.2$  mg KE/g özüt) belirlenmiştir. Yapılan literatür taraması sonucunda fındık zurufunun TFMM içeriği ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle benzer tarımsal atıklar çalışma sonuçlarımızla karşılaştırma yoluna gidilmiştir. Rahimipناه vd. (2010)'da yaptığı çalışmada ceviz yeşil kabuğunun %60 su-metanollü özütüne ait değeri 1.45 mg Kuersetin/g kuru ağırlık, aynı ürünün Shi vd. (2018) de olgunlaşma evrelerine göre %50 metanollü özütünde yaptığı çalışmada ortalama değeri 1.03 mg GAE/g kuru ağırlık olarak belirtmişlerdir. Bu verilere bakıldığında fındık zurufunun TFMM içeriğinin ceviz kabuğundan daha yüksek olduğu görülmüştür. Ghasemi vd. (2011) ise ceviz yeşil kabuğunun %100 metanollü özütünü ortalama 10 mg Kuersetin/g özüt olarak bulmuşlardır. Bu veriler incelendiğinde ise fındık zurufunun TFMM içeriğinin ceviz yeşil kabuğundan

düşük olduğu görülmüştür. Bu farklılığın kullanılan birimlendirmeden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı bir tarımsal atık olan fıstık kabuğunun %80 metanollü özütünde Meng vd. (2020) de ise 41 mg GAE/g özüt olarak belirlemiştir. Rusu vd., (2018, 2019) daki çalışmalarında %50 aseton ve etanol çözücülerinde ceviz septumunda en yüksek değeri 8.99 ve 6.51 mg Kuersetin/g kuru ağırlık, %50 asetonlu fıstığın en yüksek değerini ise 43 mg Kuersetin/g kuru ağırlık olarak belirtmiştir. Bu değerlere bakıldığında fıstık zurufu atığının fıstık kabuğundan ve fıdıktan oldukça düşük TFMM içeriğine sahip olduğu cevize nazaran ise bu farkın daha yakın bir değerde olduğu görülmüştür.

Shahidi vd. (2007) yapmış oldukları HPLC çalışmasında, fıstık zurufunun içerdiği fenolik asit bileşiklerinden gallik asit, kafeikasit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit değerleri sırası 0.892, 0.158, 0.1662, 0.327, 0.064 mg/ g özüt olarak saptamışlardır. Alasalvar vd., (2006) ise etanollü ve asetonlu fıstık zurufunun içerdiği fenolik asit içeriklerinin serbest ve esterleşmiş formlarını çalışmışlar; etanolik özütte serbest formu (gallik, kafeik, p-kumarik, ferulik, sinapik) 0.253, nd, 0.038, nd, nd mg/g özüt, esterleşmiş formu (gallik, kafeik, p-kumarik, ferulik, sinapik ) 1.244, 0.376, 0.180, 0.055, 0.022 mg/g düzeyinde bulmuşlar iken asetonlu özütte bu değerler serbest formda 0.269, nd, 0.041, nd, nd mg/g özüt, esterleşmiş formda ise 1.450, 0.352, 0.202, 0.058, 0.018 mg/g şeklinde bulmuşlardır.

Çalışmamızda toplam antioksidan kapasiteleri özütlerin CUPRAC ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. Sonuçlar standart olarak kullanılan troloks grafiği yardımıyla gram özüt başına mg troloks eşdeğer FRAP aktivitesi ( $173 \pm 2.4$  mg TEFA/g özüt) ve CUPRAC aktivitesi ( $285 \pm 9$  mg TECA/g özüt) şeklinde ifade edilmiştir. Yapılan literatür taramasında fıstık zurufu atığının CURPAC ve FRAP aktivitesini gerçekleştirildiği çalışmaya rastlanılmamıştır. Benzer tarımsal ürünlerin sınırlı sayıdaki FRAP çalışmalarına bakıldığında ise Rusu vd.,(2018, 2019) eşit hacimdeki aseton-su ceviz septumu ve fıstık özütü çalışmalarında 401 ve 351 mg TE/ g özüt olarak FRAP değerlerini belirlemiştir. Bu değerlere bakıldığında farklı özütleme çözücüsü göz önünde bulundurarak fıstık zurufunun antioksidan kapasitesinin ceviz ve fıdıktan düşük olduğunun söylenebileceği düşünülmektedir.

Fıstık zurufu özütlerin indirgeme kapasitesi Oyaizu metoduna göre gerçekleştirilmiştir ve yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin bir göstergesidir (Oyaizu, 1986). FRAP ve CURPAC metadlarında çalışılan konsantrasyonlar

baz alınarak fındık zurufunun ortamdaki Fe<sup>+3</sup>'ü indirgeme potansiyeli standart olarak askorbik asit kullanılarak ( $57 \pm 0.8$ mg A.A/g özüt) çalışılmıştır.

Çalışmamızda fındık zurufu özütlerinin TPFMM ve TFMM ile CUPRAC, FRAP ve İP aktiviteleri arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon analizi sonucunda özütlerde bulunan TPFMM miktarındaki artış antioksidan kapasitede artışa neden olduğu görülmüştür. Bu bağlamda fındık zurufu özütlerinin içerdiği polifenolik içeriklerin antioksidan aktiviteye sahip oldukları düşünülmektedir.

Çalışmamızda fındık zurufunun radikal temizleme aktivitesinin belirlenmesi DPPH radikali ile gerçekleştirildi. Absorbasındaki azalma ise yüksek radikal süpürme kapasitesinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Brand-Williams vd., 1995; Büyüktuncel, 2013). Fındık zurufunda DPPH'in IC<sub>50</sub> değeri  $0.060 \pm 0.002$  mg/mL ve BHT'de ise  $0.059 \pm 0.004$  mg/mL olarak bulunmuştur. Bu değerlere bakıldığında fındık zurufunun antioksidan aktivitesi BHT ile eşdeğerdir. Oğuzkan vd. (2016) aynı örneğin %100 metanolik özütünün IC<sub>50</sub> değerini 0.003 mg/mL bulurken, Alasalvar vd.,(2006) ise aynı örneğin %80 aseton ve %80 etanollü özütlerinde IC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 0.065 ve 0.074 mg/mL olarak vermişlerdir. Sonuçlarımızın Alasalvar'ın (2006) farklı çözücülerde elde ettiklerine daha uyumlu olduğu ancak bizimle aynı çözücü kullanan Oğuzkan'a (2016) göre ise daha yüksek değere sahip olduğu gözükmemektedir. Bu farklılığın özütlemeye kullanılan zuruf miktarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Esposito vd. (2017) ise fındikkabuğu %100 metanolik özütünde IC<sub>50</sub> değerini 0.032 mg/mL olarak belirlemiş ve fındık zurufunun fındikkabuğundan daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu görünmektedir. Ayrıca benzer tarımsal atıkların değerleri incelendiğinde Fernandez vd. (2013) ceviz yeşil kabuğunun %100 metanol ve etanol özütlerinde 0.38 ve 0.49 mg/mL değerlerini aynı atığın %100 metanollü özütünde Ghasemi vd. (2011) ortalama 0.19 mg/mL olarak, Shi vd., (2018)'in % 50 metanolik özütünde olgunlaşma dönemlerine göre IC<sub>50</sub> değerini ortalama 2.81 mg/mL, Doğan vd (2014) ise %82 metanollü ve etanollü özütüne ait değerleri 0.72, 0.70 mg/mL olarak bulmuşlardır. Diğer bir tarımsal atık olan Antep fıstığı kabuğunun ve badem kabuğunun Doğan vd (2014) ise %82 metanollü ve etanollü özütüne ait değerlerini 1.51, 2.09 mg/mL ve 16, 15 mg/mL şeklinde belirtmişlerdir. Bütün bu sonuçlar fındık zurufu atığının diğer tarımsal ürün atıklarına göre daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmada fındık zurufu özütü varlığında serbest radikallerin hücrel hasar düzeyini incelemek için hücre modeli olarak eritrositler kullanılmıştır. Eritrositler basit hücre yapısına sahiptirler. Yapılarında yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asidinin yer alması, oksijen molekülü taşımaları, hemoglobine bağlı demir gibi geçiş metallerine sahip olmaları nedeniyle meydana gelen hasarı ortadan kaldıramazlar. Bu sebeple serbest radikal saldırısı için ana hedef olarak kabul edilirler (Gaetani vd., 1989; Van der Berg vd., 1992). Çalışmamızda *in vitro* oksidatif stres oluşturmak amacıyla eritrositler H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmıştır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membrandaki fosfolipit yapısındaki yağ asitlerinde, yüzey basıncında ve hücre yüzey bileşenlerinde değişimlere yol açarak eritrosit membranında hemolize neden olduğu görülmüştür (Balkan, 2017). Ayrıca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruz kalan hemoglobinin hemoglobin demir iyonlarının salınımı ile hemde bozulmaya neden olmaktadır (Ajila ve PrasadoRao, 2008).

Eritrositlerde hasar oluşturmak için ideal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunu belirlemek amacıyla 10-20-30-40-50 mM'lık konsantrasyonlar ile çalışılmıştır. 20 mM üzerindeki konsantrasyonlar arasında oluşan hasarda oldukça az bir farkın olması nedeniyle kullanılması gereken ideal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu 20 mM olarak belirlenmiştir (Ek 1). Belirlenen 20 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu ilave edilerek eritrositlerde hasar meydana getirilmiştir. Çalışmalarda kullanılacak fındık zurufu özüt miktarını belirlemek için 0,625-1,25-2,5-5 mg/mL'lik konsantrasyonlarda özüt miktarları çalışılmıştır. Özütlerin kıyaslanarak antioksidan davranışı incelendiğinde antioksidan etkinin 1,25 mg/mL'lik konsantrasyonda görülmeye başlandığı, konsantrasyon arttırıldığında antioksidan etkinin arttığı görülmüştür (Ek 2). Çalışmamızda sentetik bir antioksidan olan BHT kullanılmıştır. Ayrıca antioksidan özelliği yüksek olduğu literatürdeki kaynaklardan bilinen doğal bir bitkisel kaynak olarak üzüm çekirdeği özütü de karşılaştırma için kullanılmıştır (Ekinci, 2008).

Çalışmamızda hücrel alanda çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşan oksidatif hasarı gösteren karalı ve son ürün olan MDA (TBARS) miktarına bakılmıştır. Fındık zurufu özütünün 1.25 mg/mL'lik konsantrasyonda bulunduğu deney ortamında MDA miktarının (344± 17 mg/g Hb) aynı konsantrasyonda bulunan üzüm çekirdeğinin (247 ± 29 mg/g Hb) ve 0.0625 mg/mL'lik konsantrasyonda bulunan BHT den (109 ± 10 mg/g Hb) MDA miktarının daha yüksek olduğu bu bağlamda fındık zurufunun lipit peroksidasyonunu engelleme kapasitesinin üzüm çekirdeği ve BHT'den daha az etkili olduğu görülmüştür. Ancak yalnızca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bulunduğu ortamla karşılaştırıldığında ise



lipit pereoksidasyonunu engelleği tespit edilmiştir. Fındık zurufu'nun hem TPFMM hemde TFMM tayinleri göz önüne alındığında sonuç sürpriz değildir. Bu sonuçlar fındık zurufu bitkisinin oksidatif stres oluşturulan ortamda etkisinin incelendiği ilk çalışma olduğu yaptığımız literatür incelemesinden anlaşılmaktadır. Benzer alışmalar araştırılmış aynı yöntemle çay atıklarında Demir (2011) yaptığı çalışmada yeşil çay yaprak atığı, yeşil çay gövde atığı, siyah çay lif atığı metanol ve etil asetat çözücüleri kullanılarak hazırlanmış özütlerinde IC<sub>50</sub> kateşin eşdeğerleri sırası ile 191, 180, 190 µM olarak belirlemiştir. Birim ve kullanılan standart farklılığından dolayı bizim sonucumuzla anlamlı bir karılaştırılma yapılamamıştır.

Fındık hasadı sonucunda oluşan tonlarca fındık zurufu yakılarak yok edilmektedir. Ancak bu tez çalışmasından elde edilen veriler aslında bu atığın yakılarak yok edilmeyecek kadar kıymetli olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma sonuçlarımız fındık zurufunun bir atığa göre oldukça yüksek miktarda antioksidan özelliğe sahip olduğu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar ışığında bu atıkları endistriyel olarak medikal ve kozmetik gibi farklı amaçlarda daha tercih edilebilir bir aday olarak kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz.

**Tablo 15.** Tarımsal atıkların antioksidan etkisini inceleyen çalışma sonuçlarının karşılaştırılması (KA\*: Kuru ağırlık)

MEVCUT ARAŞTIRMA	ÇALIŞMA GRUPLARI			
	TPFMM	TFMM	DPPH (IC <sub>50</sub> )	İP (IC <sub>50</sub> )
<b><u>Fındık Zuruf çalışmamız</u></b>				
• %100 Metanol	128 mg GAE/ g özüt	5.8 mg Kuersetin/g özüt	0.060 mg/mL	
<b>Alaşalvar vd. (2006)</b>				
<b><u>Fındık zuruf</u></b>				
• %80 Aseton	201 mg kateşin/g özüt		0.065 mg/mL	
• %80 Etanol	156 mg kateşin/g özüt		0.074 mg/mL	
<b>Shahidi vd. (2007)</b>				
<b><u>Fındık zuruf ve Fındıkkabuğu</u></b>				
• %80 Etanol	127-214 mg kateşin/g özüt			
<b>Sürek ve Büyükkileci (2018)</b>				
<b><u>Fındık zurufu</u></b>				
• %80 Metanol	12.1 mg GAE/g KA*			
• %80 Aseton	16.8 mg GAE/g KA*			
<b>Oğuzkan vd. (2016)</b>				
<b><u>Fındık Zuruf</u></b>				
• %100 Metanol			0.003 mg/mL	
<b>Fernandez vd. (2013)</b>				
<b><u>Ceviz yeşil kabuğu</u></b>				
• %100 Metanol	66 mg GAE/g özüt		0.38 mg/mL	1.65 mg/mL
<b>Rahimipناه vd. (2010)</b>				
<b><u>Ceviz yeşil kabuğu</u></b>				
• %60 Su- Metanol	34 mg GAE/g KA*	1.45 mg Kuersetin/g KA*	0.18 mg/mL	0.19 mg/mL
<b>Shi vd. (2018)</b>				
<b><u>Ceviz yeşil kabuğu (ortalama)</u></b>				
• % 50 Metanol	0.61 mg GAE/g KA*	1.03 mg GAE/g KA*	2.81 mg/mL	
<b>Ghasemi vd. (2011)</b>				
<b><u>Ceviz yeşil kabuğu (ortalama)</u></b>				
• 100 Methanol	49 mg GAE/ g özüt	10.3 mg Kuersetin/g özüt	0.19 mg/mL	
<b>Zoral Turgay, (2014)</b>				
<b><u>Ceviz ve Antep fıstığı kabuğu</u></b>				
• %99.8 Metanol	6.64-15.15 mg GAE/g özüt			
<b>Doğan vd. (2014)</b>				
<b><u>Ceviz yeşil kabuğu ( en yüksek)</u></b>				
• %82 Metanol	73 mg GAE/g özüt		0.72 mg/mL	1.76 mg/mL
<b><u>Antep Fıstık kabuğu</u></b>				
• %82 Metanol	32 mg GAE/g özüt		1.51 mg/mL	3.80 mg/mL
<b><u>Badem kabuğu( en yüksek)</u></b>				
• %82 Metanol	18 mg GAE/g özüt		16 mg/mL	16 mg/mL
<b>Meng vd. (2020)</b>				
<b><u>Fıstıkkabuğu</u></b>				
• %80 Metanol	3.62 mg GAE/g özüt	41 mg GAE/g özüt		
<b>Esposito vd. (2017)</b>				
<b><u>Fındıkkabuğu</u></b>				
• %100 Metanol	194 mg GAE/g özüt		0,032 mg/mL	
<b>Rusu vd. (2018)</b>				
<b><u>Ceviz septum( en yüksek)</u></b>				
• %50 Aseton	67 mg GAE/g KA*	8.99 mg Kuersetin/g KA*		
<b>Rusu vd. (2019)</b>				
<b><u>Fındık</u></b>				
• %50 Aseton	377 mg GAE/g KA*	43.10 mg Kuersetin/g KA*		

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Farklı çözücüler kullanıldığı özütleme işlemi yapılarak TPFMM, TFMM, DPPH ve indirgeme potansiyeli ile diğer antioksidan yöntemler çalışılarak birbirleriyle mukayese edilebilir.
2. Özütlerin protein oksidasyonu üzerindeki etkileri ve oksidatif strese oluşturulan hücresel ortamda karbohidrat ve nükleik asitlerde oluşan hasarı baskılama kapasiteleri incelenebilir.
3. Özütlerin katalaz, süperoksitdismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerinin aktiviteleri incelenerek antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde daha ayrıntılı bir katkı sağlanabilir.
4. Özütlerin fenolik bileşik içerikleri HPLC ile gerçekleştirilerek aydınlatılabilir. Ayrıca mevcut çalışma da daha verimli sonuçlar elde etmek için HPLC ile gerçekleştirilebilir.
5. Özütlerin hücre kültürü çalışmaları yapılarak sağlıklı ve kanser hücrelerinin canlılık aktiviteleri üzerine etkileri araştırılabilir.
6. Deneysel hayvanları üzerinde *in vivo* olarak çalışma gerçekleştirilerek bulunan sonuçlar mevcut sonuçlar ile karşılaştırılarak daha sağlıklı sorgulanabilir.

## 7. KAYNAKLAR

Adam B, Yiğitoğlu R (2012). Tıbbı Biyokimya Ders Kitabı Atlas Yayın. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti.

Ajila, C.M, Prasadarao U.J (2008). Protection Against Hydrogenperoxide İnduced Oxidative Damage in Raterythrocytes by Mangiferaindical. Peel extract. Food and Chemical Toxicology, 46: 303-309

Aksoy Y (2002). Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü T. Klinik Tıp Bilimleri 22:442-448

Alasalvar C, Karamaca M, Amarowicz R, Shahıdı F (2006). Antioxidant and Antiradical Activities in Extracts of Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Green Leafy Cove rJ. Agric. Food Chem. 2006, 54, 4826-4832

Albayrak S, Sağdıç O, Aksoy A, (2010). Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(4): 401-409

An F, Wang S, Yuan D, Gong Y, Wang S (2016). Attenuation of Oxidative Stress of Erythrocytes by Plant-Derived Flavonoids, Orientin and Luteolin Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine V, Article ID 3401269, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3401269>

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. Agric. Food Chem. 52,26: 7970-7981

Arbos KA, Claro LM, Borges L, Santos CAM, Weffort-Santos AM, (2008). Human Erythrocytes as a System Fore valuating the Antioxidant Capacity of vege Table Extracts. Nutrition Research 28 457–463

Aslankoç R, Demirci D, İnan U, Yıldız M, Ozturk A, Cetin M, Savran EŞ, Yılmaz B (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon Peroksidaz (GPx). Med J SDU / SDÜ Tıp Fak Derg. 26(3):362-369

- Atınç M, Kalkan İ (2018). Flavonoidler ve Sağlık Üzerine Etkileri. Aydın Astronomy, 2 (1):31-38
- Aydemir B, Karadağ Sarı E (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Vet J (2009) 2 (2): 56-60
- Başoğlu F. (1982). Gıdalarda Kullanılan Bazı Baharatların Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri ve Kontaminasyondaki Rollerini. Gıda.7(1), 19-24.
- Balkan S. (2017). Eritrositlerde in vitro Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Olarak Değerlendirilen Çeşitli Bitki Ekstraktları. Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(2): xx-xx
- Bayram ÖS, Bayram Ö, Valerius O, Park HS, Irniger S, Gerke J, Ni M, Han K, Yu JH, Braus GH, Lae A (2010). Control of Velvet Family Regulatory Proteins for Light-Dependent Development and Fungal Cell-Type Specificity. Plos Genetics 6(12): e1001226.
- Benzie FF, Strain JJ (1999). Ferric Reducing/Antioxidant Power assay: Direct measure of total Antioxidant activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic acid Concentration. Methods in Enzymology. 299: 15-27
- Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F (2018). Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-Hydroxynonenal and Malondialdehyde In Aging-Related Disorders. MDPI Journals 7(8): 102.
- Bilgin S, Yılmaz H, Koçer A, Acar M, Dok M (2015). Fındık Zuruğunun Peletlenmesi ve Pelet Fiziksel özelliklerinin Belirlenmesi. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi 11(3): 265-273
- Bilaloğlu GV, Harmandar M (1999). Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd. Şti. İstanbul, 336
- Birman H. (2012). Bitkisel Flavonoid Bileşiklerinin Biyoaktiviteleri ve Muhtemel Etki Mekanizmaları. İst Tıp Fak Derg 2012; 75:3
- Bulut S (2018). Giresun ili ve Yöresi Ağızlarında Fındık. Mavi Atlas 6(1):205-232
- Burak M, Çimen Y (1999). Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri. T Klin J Med Sci 19:296-304

Büyüktuncel E (2013). Toplam Fenolik İçerik Ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 17:93-103

Büyüksulu N, Yiğitbaşı T (2015). Reaktif Oksijen Türleri ve Obezitede Oksidatif Stres. *MUSBED* 2015;5(3):197-203

Büyükoğlu T, Aslan AN (2018). Oksidatif Stres ve Geçiş Dönemi Süt Sığırlarında Oksidatif Stresin Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 9(2):33-41

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use Of A Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. *LWT –Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. doi:10.1016/s0023-6438(95)80008-5

Carr A C, Frei B (1999). Toward a New Recommended Dietary Allowance For Vitamin C Based On Antioxidant and Health Effects In Humans. *Am J Clin Nutr* 69:1086–107.

Chauhan A, Chauhan V, Brown W T, Cohen I (2004). Oxidative stress In Autism: In Creased Lipid peroxidation and Reduced Serum Levels Of Ceruloplasmin and Transferrin the Antioxidant Proteins *Life Sciences* 75 (2004) 2539–2549

Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O. (1997). “Iridoid Glucosides With Free Radical Scavenging Properties From *Fagraea Blumei*”. *Helvetica Chimica Acta*, 80, pp 1144-1152

Çaylak E (2011). Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 9 (1 ):73-83

Demir A (2011). Siyah Ve Yeşil Çay İle Atıklarının Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Rize

Demirel B, Gürdil GAK (2017). Fındık Zurufu Atığından Yakıt Briketi Elde Edilmesi Ve Brikete Ait Bazı Özelliklerin Belirlenmesi. *Anadolu J AgrSci*, 33

Doğanay H (2012). Türkiye Fındık Meyvacılığındaki Yeni Gelişmeler. *Doğu Coğrafya Dergisi*-27

Doğan C (2016). Menengiç ve Bazı Sert Kabuklu Meyve Dış Kabuklarına Ait Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi ve Meyveli Yoğurt Üretiminde Kullanımı. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa

Doğan C, Doğan N, Çelik Ş(2014). Farklı Solventlerle Ekstrakte Edilen Ceviz Dış Kabuklarının Bazı Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 18 (3), 41-47

Eckl P, ALIJA A, Siems W, Bojaxhı E, Vogl C, Martano G, Stutz H, Bresgen N (2009). Beta-Carotene, Aging&Degenerative Disease. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2;29(Suppl):S29-S31

Ekici L, Sağdıç O (2008). Serbest Radikaller ve Antioksidan Gıdalarla İnhibisyonu. Gıda 33 (5):251-260

Ekinci AP (2008). Erzincan Üzümünün (*Vitisviniferaspp.*, *Cimin*) Farklı Dokularına Ait Ekstraktların Antioksidan Özelliklerinin İn Vitro İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.

Elliot JG (1999). Application Of Antioxidant Vitamins İn Foods and Beverages. Food Tech. 53: 46-48.

Esposito T, Sansone F, Franceshelli S, Del audio P, Picerno P, Patrizia R (2017). Hazelnut (*Corylus avellana L.*) Shells Extract: Phenolic Composition, Antioxidant Effect and Cytotoxic Activity on Human Cancer Cell Lines. Int. J. Mol. Sci.2017, 18, 392; doi:10.3390/ijms18020392

Fernandez-Agullo A, Pereira E, Freire MS, Valentao P, Andrade PB, Gonzalez-Alvarez J, PereiraJA (2013). Influence Of Solvent On The Antioxidant and Antimicrobial Properties Of Walnut (*Juglans regia L.*) Gren Husk Extracts Industrial Cropsand Products 42 (2013) 126– 132

Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS (2011). Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi Kastamonu Üni. Orman Fakültesi Dergisi,11 (1): 52 - 67

Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS(2013). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları. EÜFBED - Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt-Sayı: 6-2 Yıl: 2013 233-265

Flora SJ (2007). Role Of Free Radicals and Antioxidants İn Health and Disease. Cell. Mol. Biol. 53(1), 1-2.

Gaetani GF, Galiano S, Caanepa L, Ferraris AM, Kirkman HN (1989). Catalase and Glutathioneperoxidase Equally Active in Detoxification of Hydrogenperoxide in Human Erythrocytes. *Blood*. 73: 334-339.

Ghasemi K, Ghasemi Y, Ehteshamnia A, Nabavi MS, Nabavi FS, Ebrahimzadeh AM, Pourmorad F (2011). Influence of Environmental Factors On Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoids Contents Of Walnut (*Juglans regia L.*) Green Husks. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(7), pp. 1128-1133

Gözükara EM (1997). *Biyokimya*. Evin Matbası, İstanbul

Gürdöl F (2015). *Tıbbi Biyokimya 2*. Baskı Nobel kitap Evleri Tic. Ltd.Şti.

Giresun ziraat odası (2015). Elektronik kaynak [online]. Kullanılabilir forum: <https://www.giresunziraatodasi.org.tr/findik-anatomisi> [Erişim 10.05.2010]

Halliwell B, Gutteridge JMC (1985). Oxygen toxicity, Oxygen radicals, Transition Metals and Disease. *Journal Biochemistry* 219: 1-14.

Halliwell B, Gutteridge JMC (2007). *Free Radicals In Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York, 10-121

Horton AA, Fairhurst S (1987). Lipid Peroxidation and Mechanisms Of Toxicity Critical Reviews in Toxicology 1987.18:27-79.

Karabulu H, Gülay MŞ (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*, 1 (1): 65-76

Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 4: 50-59.

Karadeniz F (1994). Elma Suyunda Fenolik Madde Dağılımı Ve Konsantreye İşleme Sırasında Değişimi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Kalita P, Barman Tapan K, Pal Tapan. K, Kalita R, (2013). Estimation Of Total Flavonoids Content (TFC) and Antioxidant Activities Of Methanolic Whole Plant Extract Of *Biophytum Sensitivum Linn.* *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(4): 33 – 37

Kasapçopur Özel GS, Birdane YO (2014). Antioksidanlar. *Kocatepe Vet J* 7(2): 41-52

Kasnak C, Palamutoğlu R (2015). Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Tarım- Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 226-234



- Kavas (Özelçi) G (1989). Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri Cilt 9, Sayı 1
- Keha E, Küfrevioğlu Ö. (1998). Biyokimya.4. Baskı. Aktif Yayınevi. Erzurum
- Koca N, Karadeniz F(2005). Gıdalardaki doğal Antioksidan bileşikler. Gıda 30(4):229-236
- Konukoğlu D, Akçay T (1995). " Glutasyon Metabolizması ve Klinik Önemi. T Klin J MedSci, 15: 214-218
- Khalili M, Ebrahimzadeh MA, Safdari Y (2014). Antihemolytic Activity of Thirty Herbal Extracts in Mousered Bloodc Ell. Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju, 65: 399-406.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010). Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: İmpact On Humanhealth. Pharmacognosy Reviews 4: 118-126.
- Mathew S, Abraham TE (2006). Studies On The Antioxidant Activities Of Cinnamon (Cinnamomumverum) Bark Extracts, Through Various İn Vitro Models. Food Chemistry, 94(4), 520–528
- Meister A (1994). The Glutathione-Ascorbic Acid Antioxidant Systems in Animal. J. Biol. Chem. 269: 9397-9400
- Memişoğulları R (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-39
- Meng, W, Shi J, Zhang X, Lian H, WangQ, Peng Y (2020). Effects Of Peanut Shell and Skin Extracts On The Antioxidant Ability, Physical and Structure Properties of Starch-Chitosan Active Pack Aging Films. International Journal of Biological Macromolecules. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.235
- Meral R, Doğan İS, Kanberoğlu GS (2012). Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar. Iğdır Univ. J. Inst. Sci. &Tech. 2(2): 45-50
- Oğuzkan BS, Uğraş S, Can M, Uzun A, Ülger S, Üzmez Ş, Karagül B, Kılıç Hİ, Özaslan M, Uğraş Hİ (2016). Fındık (*Corylus avellana* L.) Yeşil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarında Biyolojik Aktivite Tayini. KSÜ Doğa Bil. Derg. 19(4), 373-378, 2016
- Okan OT, Varlıbaş H, Öz M, Deniz İ (2013). Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. Kastamonu Üni. Orman Fakültesi Dergisi, 13 (1): 48-59

Okumuş G, Yıldız E, Akpınar-Bayizit A (2015). Doğal Antioksidan Bileşikler: Nar Yan Ürünlerinin Antioksidan Olarak Değerlendirilmesi. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt 29, Sayı 2, 203-214

Oyaizu M (1986). Studies On Products Of Browningreaction: Oxidativeactivities Of Products of Browning Reaction Prepared From Glucoseamine. Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315

Özenç DB, Şahin M (2018). Fındık Zuruf Kompostunun Yeşil Alan Tesisinde Örtü Materyali Olarak Kullanımı. OrduÜniv. Bil. Tek. Derg. 8(1): 79-90

Özcan O, Erdal H, Çakırca1 G, Yönden Z (2015). Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 6 (3): 331-336

Prior R.L, and Cao G,(1999). Invivo Total Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. Free Radical Bio. Med. 27, 1173–1181,

Rahimipannah M, Hamedı M, MirzapourM (2010). Antioxidant Activity and Phenolic Contents Of Persian Walnut (*Juglansregia L*) Gren Husk Extract African Journal of Food Science and Technology (ISSN: 2141-5455) Vol. 1(4) pp. 105-111, October,

Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E (2008). The Antioxidant Properties Of Serum Albumin. FEBS Letters 582 1783–1787

Rusu EM, Fizeşan I, Pop A, Gheldiu AM, Mocan A, Crişan G, Vlase L, Loghin F, Popa DS, Tomuta I (2019). Enhanced Recovery of Antioxidant Compounds from Hazelnut (*Corylus avellana L.*) Involucre Based on Extraction Optimization: Phytochemical Profile and Biological Activities. Antioxidants, 8(10), 460. doi:10.3390/antiox8100460

Rusu M, Gheldiu AM, Mocan A, Moldovan C, Popa DS, Tomuta I, Vlase L (2018). Process Optimization for Improved Phenolic Compounds Recovery from Walnut (*Juglansregia L.*) Septum: Phytochemical Profile and Biological Activities. Molecules, 23(11). doi:10.3390/molecules23112814

Sen S, Chakraborty R Sridhar C, Reddy YSR, De B (2010). Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research Volume 3, Issue 1, July – August 2010; Article 021

- Sezer K, Keskin M (2014). Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. F.Ü.Sağ. Bil. Vet. Derg. 2014; 28 (1): 49 – 56
- Shahidi F, Alasalvar C, Chandrika M. Lıyana-Pathırana (2007). Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 1212-1220
- Shi B, Zhang W, Li X, Xuejun Pan (2018). Seasonalvariations of Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Walnut (*Juglans sigillata* dode) Gren Husks. International Journal of Food Properties, DOI: 10.1080/10942912.2017.1381706
- Sies H (1997). Oxidativestress: Oxidants and Antioxidants. Experimental Physoloy 82.291-295 Pirinted in Great Britain
- Singh BK, Sharma SR, Singh B (2009). Combining Ability Fors Uperoxidedismutase, Peroxidase and Catalase Enzymes in Cabbagehead (*Brassicaoleracea* var. *capitata* L.). Scientia Horticulturæ 122: 195–199
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM, (1999). Analysis of Total Phenols and Otheroxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, Methods Enzymol. 299, 152-178
- Slinkard K, Singleton VL (1977). Total Phenolanalysis: Automation and Comparison with Manuel Methods, Am. J. Enol. Viticult 28: 49-55.
- Stocks J, Dormandy TL (1971). The Autoxidation of Human Red Cell Lipids Induced by Hydrogen Peroxide. British Journal of Haematology. 575.
- Suwalsky M, Orellana P, Avello M, Villena F (2007). Protective Effect of Ugnimolinae Turcz Against Oxidative Damage of Human Erythrocytes. Food and Chemical Toxicology, 45: 130-135.
- Sürek E, Büyükkileci AO (2018). Kritik Altı Suile Fındık Atıklarından Antioksidan Bileşiklerin Ekstraksiyonu. GIDA 43 (2): 211-222doi:10.15237/gida.GD17104
- Tarım orman Bakanlığı (2020). Eletronik kaynak [online]. Kullanılabilir forum: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/findik/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=26>[Erişim 10 Şubat 2020]
- Taner G (2005). Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma, Bilim Teknik, Ağustos 113: 453.

- Temel M, Tinmaz A. B, Öztürk M, Gündüz O (2018). Dünyada ve Türkiye’de Tıbbi - Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 21(Özel Sayı): 198-214,
- Topuz BK, Kılıç O, Boz İ, Eryılmaz GA (2019). Türkiye’de Fındık Üretim Alanlarının Daraltılması Politikası. Akademik Ziraat Dergisi 8(1): 141-148
- TÜİK (2019).Türkiye İstatistik Kurumu,<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>,
- Woisky R, Salatino A (1998). Analysis of Propolis: Some Parameters and Procedures For Chemical Quality Control, J. Apicultural Res. 37, 99-105.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J (2007).Fre Radicals and Antioxidants İn Normal Physiological Functions and Human Disease. The International Journal of Biochemistry Cell Biology 39: 44-84.
- Van der Berg JJ, Op den Kamp JA, Lubin BH, Roelofsen B, Kuypers FA(1992). Kinetics and Sitespecificity of Hydroperoxide-İnduced Oxidative Damage İnred Blood Cells. Free Radical Biology and Medicine, 12(6):487-498.
- Velioğlu S (2000). Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. Gıda 25: 167-176.
- Yarsan E (1998). Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar Y. Y. U Vet. Fak. Derg. 9 (1-2): 89-95
- Young IS, Woodside JV (2001). Antioxidants İn Health and Disease. Journal of Clinical Pathology 54: 176-186.
- Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ (2002). Superoxide Dismutase Multigene Family: A Comparison of The CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) Gene Structures, Evolution, and Expression. Free Radical Biology&Medicine 33(3):337–349.
- Zoral FB, Turgay Ö (2014). Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması KSÜ Doğa Bil. Derg. 17(2),

## EKLER

**Ek 1.** Hidrojen peroksit konsantrasyon taraması

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	Ortalama	SD
<b>RBC</b>	15	19	12	19	20	16	22	21	<b>18</b>	3
<b>10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	135	133	147	142	125	96	93	98	<b>121</b>	22
<b>20 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	196	719	689	770	683	753	798	868	<b>747</b>	64
<b>30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	854	866	842	898	720	920	879	920	<b>862</b>	64
<b>40 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	891	908	897	909	885	898	938	898	<b>903</b>	16
<b>50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	849	854	937	860	850	833	907	833	<b>865</b>	37

**Ek 2.** Farklı özüt konsantrasyonlarının antioksidan etkileri

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	ORT.	SD.
<b>RBC</b>	23	20	19	13	16	20	14	<b>18</b>	4
<b>RBC+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	798	735	735	868	868	943	770	<b>824</b>	79
<b>5 mg/mL</b>	146	135	167	135	145	144	157	<b>145</b>	12
<b>2.5 mg/mL</b>	190	210	225	192	210	204	198	<b>205</b>	12
<b>1.25 mg/mL</b>	354	344	324	337	375	332	339	<b>344</b>	17
<b>0.625 mg/mL</b>	569	547	580	502	58	531	590	<b>549</b>	31

## ÖZGEÇMİŞ

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>			
<b>Soyadı, Adı</b>		:Sevgi PİRİNÇ	
<b>Uyruğu</b>		:T.C	
<b>Doğum Tarihi ve Yeri</b>		:02/11/1983 RİZE-MERKEZ	
<b>Telefon (İş)</b>		:Yok	
<b>E-Posta</b>		:sevgisp@gmail.com	
<b>Yazışma Adresi (İş)</b>		:Yok	
<b>EĞİTİM BİLGİLERİ</b>			
<b>Derece</b>	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>	
<b>Doktora/Uzmanlık</b>	-	-	
<b>Yüksek Lisans</b>	-	-	
<b>Lisans</b>	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2006	
<b>Lise</b>	Rize Lisesi	2000	
<b>AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ</b>			
<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl -Yıl)</b>	
1. Analiz Sorumlusu	Gözlem Tıp Laboratuvarı	5 ay	
2. Kalite Sistem Sorumlusu- Kimyager	Rize Sosyal Hizmetler ve Çevre Yatırımları Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi	6 yıl	
3.			
<b>YABANCI DİL</b>			
	İngilizce		
<b>UZMANLIK ALANI</b>			
	-		
<b>YAYINLAR</b>			

1.	Yok
2	
3	
4	
5	
<b>BİLDİRİLER</b>	
1	Yok
2	
3	
4	
<b>ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR</b>	
1.	Yok
2.	
3	
<b>HOBİLER</b>	
	Karakalem resim, Kitap okumak